VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY)

IVD

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY) est un test qualitatif automatisé sur les instruments VIDAS, permettant la détection des anticorps IgG anti-*Helicobacter pylori* dans le sérum ou le plasma humain (EDTA), par technique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay). VIDAS® HPY est utilisé dans l'aide au diagnostic des infections à *H. pylori* chez une population adulte symptomatique.

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

Helicobacter pylori (appelé autrefois *Campylobacter pylori*) est un bacille microaérophile en forme de spirale qui entraîne une inflammation de la muqueuse de l'estomac (gastrite) et des ulcères chez les personnes infectées. L'infection peut également être à l'origine de cancers de l'estomac (1, 2, 3). Les personnes présentant des symptômes d'infection à *H. pylori* sont considérées comme infectées, alors que les personnes asymptomatiques sont considérées comme colonisées. La plupart des personnes colonisées ne développeront jamais d'ulcères et resteront asymptomatiques malgré une colonisation par *H. pylori* depuis des années, voire des dizaines d'années. (4, 5).

Il existe des méthodes invasives et non invasives pour détecter la présence de *H. pylori*. La biopsie par endoscopie est traditionnellement utilisée pour obtenir des échantillons de tissus gastriques ou duodénaux en vue de coloration, culture et/ou détection directe de l'uréase.

La biopsie peut entraîner des résultats faussement négatifs chez des individus infectés en raison de la répartition non uniforme de *H. pylori* dans le tissu gastrique ou duodénal ou encore, lorsque les tissus sont porteurs de *H. pylori* non viables ou non producteurs d'uréase (6). Les méthodes invasives telles que l'endoscopie sont inconfortables, présentent des risques pour le patient et sont coûteuses à réaliser.

Les méthodes non invasives comprennent les tests respiratoires à l'urée et les méthodes sérologiques. Les tests respiratoires à l'urée permettent la détection de *H. pylori* via son uréase fortement active : de l'urée marquée au carbone-14 ou au carbone-13 est ingérée par le patient et la présence de dioxyde de carbone exhalée est déterminée par scintillation ou spectrophotométrie de masse. Les inconvénients d'une telle méthode sont l'exposition des patients à des radio-isotopes et l'équipement onéreux nécessaire (6, 7, 8).

Les patients souffrant d'infections à *H. pylori* produisent des anticorps sériques. Ces anticorps sont corrélés avec la présence d'infections à *H. pylori* confirmées par histologie.

Les méthodes sérologiques (telles que les tests immunoenzymatiques) sont non invasives, peu coûteuses, rapides et faciles à réaliser. Leur principal avantage, par rapport aux méthodes invasives, est qu'elles ne dépendent pas de la précision du prélèvement (7, 9).

PRINCIPE

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique sandwich en 2 étapes à une détection finale en fluorescence (ELFA). Toutes les étapes de la réaction ainsi que la température du test sont contrôlées automatiquement par l'instrument. Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et sont pré-répartis dans la cartouche.

Après une étape préliminaire de lavage, et de dilution de l'échantillon, celui-ci subit des cycles d'aspiration et de refoulement pendant un temps déterminé. La première étape permet aux anticorps anti-*H. pylori* présents dans le prélèvement de se lier spécifiquement aux antigènes *H. pylori* déjà fixés sur les parois du cône.

Des étapes de lavage éliminent les composants non fixés.

Des anticorps anti-IgG humaines conjugués à la phosphatase alcaline sont alors aspirés/refoulés dans le cône et vont se fixer sur les IgG humaines fixées sur les parois du cône.

Une étape finale de lavage permet d'éliminer le conjugué d'anticorps anti-humain non fixé.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-ombelliferone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm. La valeur du signal de fluorescence est mesurée par le système optique de l'instrument VIDAS. A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument. Une valeur test est obtenue et un résultat est imprimé pour chaque échantillon.

COMPOSITION DES REACTIFS DU COFFRET (30 TESTS) :

30 cartouches HPY	STR	Prêtes à l'emploi.
30 cônes HPY (1 x 30)	SPR	Prêts à l'emploi. Cônes sensibilisées par de l'antigène *H. pylori* purifié.
Standard HPY (1 x 2 ml)	S1	Prêt à l'emploi. Sérum humain* contenant des anticorps anti-*H. pylori* + azoture de sodium 1 g/l. L'intervalle de confiance en "Relative Fluorescence Value" (RFV) est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Standard (S1) RFV Range".
Contrôle positif HPY (1 x 1,5 ml)	C1	Prêt à l'emploi. Sérum humain* contenant des anticorps anti-*H. pylori* + azoture de sodium 1 g/l. L'intervalle de confiance en Valeur Test (TV) est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Control C1 Test Value Range".
Contrôle négatif HPY (1 x 1,5 ml)	C2	Prêt à l'emploi. Sérum humain* ne contenant pas d' anticorps anti-*H. pylori* + azoture de sodium 1 g/l. L'intervalle de confiance en Valeur Test (TV) est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Control C2 Test Value Range".
1 Carte MLE		Fiche de spécifications contenant les données usine nécessaires à la calibration du test.
1 Notice		

* L'absence d'antigène HBs de surface, d'anticorps anti-VIH1, anti-VIH2 et d'anticorps anti-VHC a été vérifiée. Cependant aucun test ne pouvant apporter une garantie absolue, ce produit doit être manipulé avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux.

DESCRIPTION

Chaque test VIDAS HPY nécessite une cartouche et un cône HPY.

Le cône :

Le cône est sensibilisé au moment de la fabrication par des antigènes purifiés de *H. pylori.* Chaque cône est identifié par le code HPY. Utiliser uniquement le nombre de cônes nécessaire et laisser les cônes inutilisés dans leur sachet. **Bien refermer le sachet après ouverture.**

La cartouche :

La cartouche est composée de 10 puits recouverts d'une feuille d'aluminium scellée et étiquetée. L'étiquette comporte un code à barres reprenant principalement le code du test, le numéro de lot et la date de péremption du coffret. Le premier puits comporte une partie prédécoupée pour faciliter l'introduction de l'échantillon. Le dernier puits est une cuvette permettant la lecture en fluorimétrie. Les différents réactifs nécessaires à l'analyse sont contenus dans les puits intermédiaires.

Description de la cartouche

Puits	Réactifs
1	Puits échantillon.
2	Diluant échantillon : Tampon TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + stabilisateurs protéiques + azoture de sodium 1 g/l (600 µl).
3	Tampon de prélavage : Tampon TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + stabilisateurs protéiques + azoture de sodium 1 g/l (400 µl).
4 - 5 - 7	Tampon de lavage : Tampon TRIS (0,05 mol/l) + détergent + azoture de sodium 1 g/l (600 µl).
6	Conjugué : Mélange titré d'anticorps monoclonaux de souris anti-IgG humaines marqués à la phosphatase alcaline + azoture de sodium 1 g/l (400 µl).
8	Tampon de lavage : Tampon DEA (360 mmol/l) + azoture de sodium 1 g/l (600 µl).
9	Diluant échantillon : Tampon TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + stabilisants protéiques + azoture de sodium 1 g/l (300 µl).
10	Cuvette de lecture avec substrat : 4-Méthyl-ombelliferyl phosphate (0,6 mmol/l) + diéthanolamine DEA* (0,62 mol/l soit 6,6 %) pH 9,2 + azoture de sodium 1 g/l (300 µl).

* **Réactif IRRITANT :**
- **R 36** : irritant pour les yeux.
- **S 26** : en cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.

Pour plus d'informations, consulter la fiche de données sécurité disponible sur demande.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Pipette à embout jetable permettant la distribution de 100 µl.
- Gants non talqués à usage unique.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- **Pour diagnostic *in vitro* uniquement**
- **Pour usage professionnel uniquement**
- **Ce coffret contient des composants d'origine humaine. Aucune des méthodes d'analyse actuellement connues ne peut garantir de façon absolue l'absence d'agents pathogènes transmissibles. Il est par conséquent recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (se reporter au Manuel de Sécurité Biologique en Laboratoire - OMS - Genève - dernière édition).**
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler).
- Considérer tous les échantillons de patients comme potentiellement infectieux et respecter les précautions d'usage. Eliminer les composants utilisés et autres matériaux contaminés selon les procédures en vigueur pour les produits d'origine humaine potentiellement infectieux (10-12).
- Ne pas utiliser les cônes dont le sachet est percé.
- Ne pas utiliser de cartouches visiblement altérées (feuille aluminium ou plastique endommagé).
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui.
- Ne pas mélanger les réactifs (ou consommables) de lots différents.
- Ne pas utiliser **de gants talqués**, le talc pouvant entraîner de faux résultats pour certains tests immunoenzymatiques.
- Les réactifs du coffret contiennent un conservateur (azoture de sodium), susceptible de réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre et de former des azotures métalliques explosifs. Il est recommandé de rincer à l'eau tout rejet.
- Le substrat (puits 10 de la cartouche) contient un agent irritant (diéthanolamine 6,6 %). Prendre connaissance de la phrase de risque “R” et des conseils de prudence “S” cités ci-dessus.

- Les projections doivent être traitées avec un liquide détergent ou une solution d'eau de Javel contenant au moins 0,5 % d'hypochlorite de sodium. Se référer au Manuel d'Utilisation pour éliminer les projections sur ou à l'intérieur de l'instrument. Ne pas autoclaver de produit javellisé.
- Les éléments du module analytique VIDAS et mini VIDAS doivent être régulièrement nettoyés et décontaminés (se reporter au Manuel d'Utilisation).

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Conserver le coffret VIDAS HPY à 2-8°C.
- **Ne pas congeler les réactifs.**
- **Laisser à 2-8°C les réactifs non utilisés.**
- A l'ouverture du coffret, vérifier l'intégrité et la bonne fermeture du(des) sachet(s) de cônes. Dans le cas contraire, ne pas utiliser les cônes.
- **Après chaque utilisation, bien refermer le sachet avec son déshydratant pour maintenir la stabilité des cônes et replacer la totalité du coffret à 2-8°C.**
- Tous les composants sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui, s'ils sont conservés dans les conditions préconisées.

ECHANTILLONS

Nature et prélèvement des échantillons :

Le test VIDAS HPY doit être réalisé sur des sérums ou plasmas (EDTA) non hémolysés et non contaminés.
Ne pas chauffer les sérums. Les échantillons contenant des particules en suspension devront être clarifiés par centrifugation ou filtration avant analyse.

Bien que les données n'indiquent aucune interférence avec l'hémoglobine (500 mg/dl), les lipides (2,0 mg/ml) ou la bilirubine (30 mg/dl), l'utilisation d'échantillons hémolysés, ictériques ou lipémiques n'est pas recommandée. Effectuer si possible un nouveau prélèvement.

Stabilité des échantillons

Tout échantillon non testé le jour de son prélèvement doit être conservé à 2-8°C pendant un maximum de 5 jours. Au delà, il est possible de congeler l'échantillon à -25 ± 6°C jusqu'à 2 mois. Ne pas excéder 2 cycles de congélation / décongélation. Ne pas tester d'échantillons présentant une contamination microbienne visible.

MODE OPERATOIRE

Pour des instructions complètes, se référer au Manuel d'Utilisation du VIDAS ou du mini VIDAS.

Saisie des données de la carte MLE

A l'ouverture d'un nouveau lot, les spécifications (ou données usine) doivent être entrées dans l'instrument (VIDAS ou mini VIDAS) à l'aide de la carte MLE (fiche de spécifications) incluse dans chaque coffret. Si cette opération n'était pas effectuée **avant de commencer les tests**, l'instrument ne pourrait pas éditer de résultats. Ces spécifications ne sont entrées qu'une seule fois pour chaque lot.
Il est possible de saisir les spécifications manuellement ou de façon automatique grâce à la carte MLE.

Calibration

La calibration, à l'aide du standard fourni dans le coffret, doit être effectuée à l'ouverture de chaque nouveau lot après entrée des spécifications du lot puis tous les 14 jours. Cette opération permet d'ajuster la calibration à chaque instrument et à l'évolution éventuelle du réactif dans le temps.
Le standard, identifié par S1, sera analysé en **double** (voir Manuel d'Utilisation). La valeur du standard doit être comprise dans les limites de RFV ("Relative Fluorescence Value") fixées. Si ce n'est pas le cas : refaire une calibration.

Réalisation du test

1. **Sortir uniquement les réactifs nécessaires, les laisser 30 minutes à température ambiante avant utilisation.**
2. Utiliser une cartouche "HPY" et un cône "HPY" pour chaque échantillon, contrôle ou standard à tester. **Vérifier que le sachet de cônes a bien été refermé après chaque utilisation.**
3. Taper ou sélectionner "HPY" sur l'instrument pour entrer le code du test. Le standard identifié obligatoirement par "S1", doit être utilisé **en double**. Si le contrôle positif doit être testé, il sera identifié par "C1". Si le contrôle négatif doit être testé, il sera identifié par "C2".
4. Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex le standard, les contrôles et les échantillons.
5. Distribuer **100 µl** de standard, d'échantillon ou de contrôle dans le puits échantillon .
   (**NB** : vérifier l'absence de bulles dans les puits échantillons après pipetage. Le cas échéant, tapoter les cartouches pour éliminer les bulles).
6. Placer dans l'instrument les cônes et les cartouches. Bien vérifier la concordance des codes (couleurs et lettres) entre le cône et la cartouche.
7. Démarrer l'analyse (voir Manuel d'Utilisation). Toutes les étapes sont alors gérées automatiquement par l'instrument. Les résultats sont obtenus en 35 minutes environ.
8. A la fin de l'analyse, retirer les cônes et les cartouches de l'instrument.
9. Eliminer les cônes et cartouches utilisés dans un récipient approprié.

RESULTATS

Dès le test terminé, les résultats sont analysés automatiquement par le système informatique. L'appareil effectue deux mesures de fluorescence dans la cuvette de lecture pour chacun des tests. La première lecture prend en compte le bruit de fond dû à la cuvette substrat avant mise en contact du substrat avec le cône. La seconde lecture est effectuée après incubation du substrat dans le cône. Le calcul de la valeur relative de fluorescence (RFV) est le résultat de la différence entre les deux mesures. Il apparaît sur la feuille de résultats.
La valeur du test est obtenue en divisant la RFV de l'échantillon de celle du standard.

TV= Valeur test = RFV patient / RFV standard

La valeur du test est alors comparée à un seuil mémorisé par l'instrument et le résultat final est interprété.

L'interprétation des résultats en fonction de la valeur du test est la suivante :
Les résultats comportant des valeurs de test inférieures au seuil indiquent que le patient ne présente pas d'anticorps anti-*H. pylori* détectables.

Seuil et interprétation des résultats

Valeur du test	Interprétation
TV < 0,75	Négatif
0,75 ≤ TV < 1,00	Equivoque
TV ≥ 1,00	Positif

Sont imprimés :
- le type de test,
- l'identification du patient,
- la date et l'heure,
- le numéro de lot et la date de péremption du coffret,
- pour chaque échantillon, la RFV, la valeur du test et l'interprétation.

L'imprécision inhérente à toute méthode rend incertaine l'interprétation des valeurs tests proches des seuils ; c'est pourquoi une zone équivoque a été établie sur la base de la connaissance de cette imprécision.
Les échantillons présentant des valeurs de test supérieures ou égales au seuil haut sont interprétés comme positifs.
Pour des valeurs seuil comprises entre 0,75 et 1,00, refaire le test avec le prélèvement initial si possible. Sinon procéder à un nouveau prélèvement et répéter le test.
En cas de nouveaux résultats équivoques, l'utilisation d'informations cliniques et autres tests de laboratoire doit être envisagée.
Les résultats sont non valides si la lecture du bruit de fond (BDF) est au-dessus d'un seuil prédéterminé (indiquant une contamination faible du substrat). Dans ce cas, répéter l'essai avec le prélèvement initial.
Les résultats sont également non valides si le standard n'a pas été validé pour le numéro de lot de la cartouche test du patient. Dans ce cas, tester un standard en double sur des cartouches HPY présentant le même numéro de lot que le test patient non validé. Le résultat du test patient pourra alors être recalculé à l'aide du standard mémorisé.
(Voir Manuel d'Utilisation pour plus de détails).

CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle positif et un contrôle négatif sont inclus dans chaque coffret VIDAS HPY.
Ces contrôles doivent être utilisés à l'ouverture de chaque nouveau coffret afin de vérifier l'absence d'altération des réactifs. Chaque calibration doit être également vérifiée à l'aide de ces contrôles. Pour que l'instrument puisse vérifier la valeur des contrôles, il faut les identifier par C1 et C2. Le contrôle positif et le contrôle négatif doivent être analysés selon les bonnes pratiques de laboratoire.
Si la valeur des contrôles s'écartent des valeurs attendues, les résultats ne peuvent être validés.
Les valeurs attendues du standard sont également mémorisées par l'intermédiaire de la carte MLE. Si les valeurs du standard s'écartent des valeurs attendues, elles seront signalées sur la feuille de résultats. Le système ne calculera pas la valeur test (VT) ni la RFV pour les patients et les contrôles.

Remarque

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en œuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITES DU TEST

1. Le test VIDAS HPY doit être utilisé uniquement sur des patients présentant des signes cliniques de maladies gastroduodénales. Il n'est pas destiné à être utilisé sur des patients asymptomatiques.
2. Comme pour tout test de diagnostic, les résultats obtenus avec VIDAS HPY doivent être interprétés parallèlement aux résutats d'autres tests de laboratoires, et aux données cliniques disponibles.
3. Un résultat positif HPY n'apporte aucune distinction entre une infection et une colonisation avec *H. pylori*.
4. Un résultat positif HPY indique la présence d'anticorps IgG *H. pylori,* mais n'indique pas forcément qu'il existe une maladie gastroduodénale.
5. Un résultat négatif HPY indique soit l'absence d'IgG *H. pylori*, soit leur présence à un taux non détectable par le test HPY.
6. Les performances n'ont pas été établies dans le cadre d'un suivi de traitement contre *H. pylori* (thérapie antimicrobienne).
7. Les performances du test n'ont pas été établies pour des patients de moins de 18 ans.
8. Une interférence peut être rencontrée avec certains sérums contenant des anticorps dirigés contre des composants du réactif, c'est pourquoi les résultats de ce test doivent être interprétés en tenant compte du contexte clinique.

VALEURS ATTENDUES

Les infections à *H. pylori* ont été observées dans le monde entier, mais il existe cependant une grande disparité géographique des prévalences. Elle est toujours plus élevée dans les pays en développement (70 à 90%) que dans les pays industrialisés (20 à 30%). Les prévalences élevées étant associées à de faible niveaux socio-économiques. Dans la population caucasienne (Etats Unis et autres pays industrialisés), les infections à *H. pylori* sont très peu fréquentes chez les enfants. La prévalence augmente ensuite de 0,5 à 2% par année de vie. Elle atteint 50 % chez les 60 ans et plus. La prévalence semble être supérieure dans la population noire et hispanique (13,14). Chez des patients présentant des ulcères duodénaux, la fréquence des infections à *H. pylori* est d'environ 80% pour toutes les tranches d'âge (15).
Dans une population tout venant (200 donneurs de sang), le pourcentage de positifs avec VIDAS HPY a été de 27,5% avec un taux d'équivoques de 5,5%.
Les valeurs attendues pour une population donnée doivent être établies par chaque laboratoire. Le taux de positivité peut varier selon différents facteurs (pays, âge, sexe de la population étudiée, saison, type de prélèvement, etc…).

PERFORMANCES

Un total de 247 sérums congelés et 100 sérums frais a été utilisé pour évaluer la sensibilité et la spécificité de VIDAS HPY.

204 sérums congelés ont été caractérisés par culture : 99 échantillons sont considérés comme négatifs et 105 positifs pour *H. pylori.*

43 sérums ont été testés par histologie : 26 sont considérés comme négatifs et 17 comme positifs.

Ces mêmes 247 sérums congelés et 100 sérums frais ont également été testés avec une méthode EIA commercialisée.

Tableau 1

204 sérums déterminés par culture

Tableau 1

		Culture	
		+	-
VIDAS HPY	+	103	9
	E	0	1
	-	2	89

1 résultat VIDAS équivoque (non inclus dans les calculs)

Sensibilité clinique 98,10%
IC 95% 93,12 % - 99,77 %

Spécificité clinique 90,82%
IC 95% 83,28% - 95,71%
IC : Intervalle de confiance

Tableau 2

43 sérums déterminés par histologie

Tableau 2

		Histologie	
		+	-
VIDAS	+	17	0
HPY	-	0	26

% de concordance positifs	17/17	100 %
% de concordance négatifs	26/26	100 %
% de concordance des résultats	43/43	100 %

Tableau 3

247 sérums testés avec une méthode EIA commercialisée.

Tableau 3

		EIA	
		+	-
VIDAS HPY	+	118	11**
	E***	1	1
	-	2*	114

2 résultats VIDAS équivoques (non inclus dans les calculs)

% de concordance positifs	118/120	98,3%
% de concordance négatifs	114/125	91,2%
% de concordance des résultats	232/245	94,7%

* 2 sérums positifs avec la méthode EIA commercialisée et négatifs avec VIDAS HPY ont été trouvés négatifs par culture.

**7 sérums négatifs avec la méthode EIA commercialisée et positifs avec VIDAS HPY ont été trouvés négatifs par culture. Un sérum négatif avec la méthode EIA commercialisée et positif avec VIDAS HPY a été trouvé positif par culture. 3 sérums négatifs avec la méthode EIA commercialisée et positifs avec VIDAS HPY ont été trouvés positifs par histologie.

***Un sérum positif avec la méthode EIA commercialisée et équivoque avec VIDAS HPY a été trouvé négatif par culture. Un sérum négatif avec la méthode EIA commercialisée et équivoque avec VIDAS HPY a été trouvé négatif par culture.

Tableau 4

100 sérums frais testés avec une autre méthode EIA

Tableau 4

		EIA	
		+	-
VIDAS HPY	+	30	6
	E	1	0
	-	1	62

1 résultat VIDAS équivoque (non inclus dans les calculs)

% de concordance positifs	30/31	96,8%
% de concordance négatifs	62/68	91,2%
% de concordance des résultats	92/99	92,9%

Les résultats discordants n'ont pas été analysés à l'aide d'une autre méthode de détection d'*H. pylori.*

REPRODUCTIBILITE

Un panel de 6 pools d'échantillons (2 négatifs, 2 positifs faibles et 2 positifs) a été utilisé pour la reproductibilité de VIDAS HPY. Ce panel a été testé sur 3 sites. Chaque pool a été testé 10 fois sur un instrument pendant 3 jours. Les résultats combinés de précision intra-série et totale sont reportés dans le Tableau 5.

La valeur test (VT) VIDAS a été utilisée. Le coefficient de variation (%CV) n'est pas présenté pour les pools d'échantillons négatifs, l'écart type (ET) représentant alors la mesure de variabilité. Les résultats sont présentés selon les normes du National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Tableau 5 (Tous les Sites)

		Négatif		**Positif faible**		**Positif fort**	
N		90	90	90	90	90	90
Moyenne des VT		0,32	0,22	1,75	1,33	9,39	5,39
Précision Intra-série	**ET**	0,02	0,01	0,07	0,06	0,25	0,20
	%CV	5,8	6,3	3,9	4,7	2,7	3,8
Précision Inter-jours	**ET**	0,05	0,02	0,08	0,08	0,44	0,78
	%CV	16,1	11,0	4,5	6,0	4,6	14,4
Précision totale Inter-sites	**ET**	0,05	0,12	0,25	0,21	1,67	0,78
	%CV	NA	NA	14,2	15,5	17,8	14,4

NA=Non applicable

REACTIONS CROISEES

	VIDAS HPY
F.R. +	1/18
A.N.A.+	2/14
MNI +	0/19
Grippe +	0/11
HSV +	1/16
Toxoplasmose IgG +	0/14
Syphilis +	0/10
CMV IgG +	0/12
Lupus érythémateux +	0/3

Au total 122 échantillons négatifs en anticorps anti- *H. pylori* (avec une méthode EIA commercialisée) ont été analysés : 5 résultats VIDAS HPY équivoques ont été exclus du tableau (1 équivoque FR +, 2 équivoques ANA +, 1 équivoque grippe +, 1 équivoque toxoplasmose IgG +).

SPECIFICITE ANALYTIQUE

Afin de déterminer la spécificité du test, des micro-organismes ont été pré-incubés dans un pool de sérums humains anti-*H. pylori* positifs. Il ont été testés en triple.

Les micro-organismes testés sont listés ci-après et ont présentés des résultats conformes avec le test VIDAS HPY : les sérums séropositifs sont restés positifs après absorption avec chaque micro-organisme, excepté la souche d'*H. pylori*.

Bacteroides fragilis
Borrelia burgdorferi
Campylobacter coli
Campylobacter fetus fetus
Campylobacter fetus venerealis
Campylobacter hyointestinalis
Campylobacter jejuni
Campylobacter lari
Campylobacter rectus
Candida albicans
Citrobacter freundii
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Helicobacter cinaedi
Helicobacter pylori
Klebsiella pneumoniae
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas fluorescens
Salmonella minnesota
Serratia liquefaciens
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Wolinella succinogenes
Yersinia enterocolitica

ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés ou non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.
Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. BUCK, G.E. 1990. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Clin. Microbiol. Rev. 3:1-12.
2. MARSHALL, B.J. and J.R. WARREN. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet I:1311-1314.
3. PETERSON, W.L. 1991. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. New England J. Med. 324(15):1043-1048.
4. BLASER, M.J. 1992. Hypothesis on the Pathogenesis and Natural History of *Helicobacter pylori*-Induced Inflammation. Gastroenterology. 102:720-727.
5. TAYLOR, D.N. and M.J. BLASER. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiol. Rev. 13:42-59.
6. MARSHALL. B.J. et al. 1988. Carbon-14 urea breath test for diagnosis of *Campylobacter pylori* associated gastritis. J. Nucl. Med. 29:11-16.
7. WILCOX, M.H. et al. 1996. Accuracy of serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection - a comparison of eight kits. J. Clin. Pathol. 49:373-376.
8. GRAHAM, D.Y. et al. 1987. *Campylobacter pylori* detected non-invasively by the C-13 urea breath test. Lancet 23:1174-1177.
9. TALLEY, N.J. et al. 1991. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. J. Clin. Microbiol. 29:1635-1639.
10. U.S. Department of Heath and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
11. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard, M29-A. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazard and /Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. NCCLS, Wayne Pa.
13. DOOLEY, C.P. et al. 1989. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. New England J. Med. 321:1562-1566.
14. GRAHAM, D.Y. et al. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology. 100:1495-1501.
15. LOFFELD, R.J., et al. 1991. The prevalence of anti-*Helicobacter (Campylobacter) pylori* antibodies in patients and healthy blood donors. J. Med. Microbiol. 32:105-109.

TABLE DES SYMBOLES

Symbole	Signification
REF ou REF	Référence du catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Fabricant
	Limites de température
	Utiliser jusque
LOT	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation
Σ	Contenu suffisant pour "n" tests

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY)

IVD

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY) is an automated qualitative test for use on the VIDAS instruments, for the detection of anti-*Helicobacter pylori* IgG antibodies in human serum or plasma (EDTA) using the ELFA technique (Enzyme Linked Fluorescent Assay). The VIDAS HPY assay is intended as an aid in diagnosis of *H. pylori* infection in an adult symptomatic population.

SUMMARY AND EXPLANATION

It has been shown that infection with *Helicobacter* (formerly *Campylobacter*) *pylori*, a spiral shaped microaerophilic bacillus, leads to inflammation of the stomach mucosa (gastritis) and in some infected persons, ulcers. The infection may also play a role in the development of stomach cancer (1, 2, 3). Symptomatic patients with *H. pylori* are considered infected, while asymptomatic people with *H. pylori* are considered colonized. Most people who are colonized with *H. pylori* never develop ulceration and remain asymptomatic despite colonization for years, probably even decades (4, 5).
There are invasive and non-invasive methods for determining presence of *H. pylori*. Biopsy by endoscopy has traditionally been used to obtain gastric or duodenal tissue specimens for subsequent stain, culture, and/or direct urease detection.

With biopsy, false negative results can occur in infected individuals due to non-uniform distribution of *H. pylori* in the sample or by obtaining tissue with non-viable or non-urease producing *H. pylori* (6). Also, invasive methods such as endoscopy involve patient discomfort, risk, and are costly to perform.

Non-invasive methods include urea breath tests and serological methods. Urea breath tests detect *H. pylori* presence via its highly active urease. Urea labeled with carbon-14 or carbon-13 is ingested by the patient, and presence of exhaled carbon dioxide is determined via scintillation or mass spectrometry. Patient exposure to radioisotopes and expensive equipment are drawbacks to urea breath testing (6, 7, 8).
Patients infected with *H. pylori* develop serum antibodies, which are correlated with the presence of histologically confirmed *H. pylori* infection.
Serological methods (such as enzyme immunoassays) are non-invasive, inexpensive, quick, easy to perform, and compared to invasive methods, the major advantage is that serological methods do not rely on the accuracy of the sampling (7, 9).

PRINCIPLE

The assay principle combines a 2-step enzyme immunoassay sandwich method with a final fluorescent detection (ELFA). All of the assay steps as well as the assay temperature are controlled automatically by the instrument. The Solid Phase Receptacle (SPR) serves as the solid phase as well as the pipetting device for the assay. Reagents for the assay are ready-to-use and pre-dispensed in the sealed reagent strips.
After preliminary wash and sample dilution steps, the sample is cycled in and out of the SPR for a specified length of time. IgG antibodies to *H. pylori* present in the specimen will bind to the *H. pylori* antigen coating the interior of the SPR. Unbound sample components are washed away.
Anti-human IgG antibodies conjugated with alkaline phosphatase are cycled in and out of the SPR and will attach to any human IgG bound to the SPR wall. A final wash step removes unbound anti-human antibody conjugate.
During the final detection step, the substrate (4-Methyl-umbelliferyl phosphate) is cycled in and out of the SPR. The conjugate enzyme catalyzes the hydrolysis of this substrate into a fluorescent product (4-Methyl-umbelliferone) the fluorescence of which is measured at 450 nm. The intensity of fluorescence is measured by the optical scanner in the VIDAS instrument. At the end of the assay, results are automatically calculated by the instrument, a test value is generated and a report is printed for each sample.

CONTENT OF THE KIT (30 TESTS) :

30 HPY strips	STR	Ready-to-use.
30 HPY SPRs (1 x 30)	SPR	Ready-to-use. Interior of SPRs coated with purified *H. pylori* antigen.
HPY Standard (1 x 2 ml)	S1	Ready-to-use. Human* serum containing anti-*H. pylori* antibodies + 1 g/l sodium azide. The range is indicated in "Relative Fluorescence Value" (RFV) on the MLE card after the following mention : "Standard (S1) RFV Range".
HPY Positive control (1 x 1.5 ml)	C1	Ready-to-use. Human* serum containing anti-*H. pylori* antibodies + 1 g/l sodium azide. The "Test Value" (TV) range is indicated on the MLE card after the following mention : "Control C1 Test Value Range".
HPY Negative control (1 x 1.5 ml)	C2	Ready-to-use. Human* serum containing no anti-*H. pylori* antibodies + 1 g/l sodium azide. The "Test Value" (TV) range is indicated on the MLE card after the following mention : "Control C2 Test Value Range".
1 MLE card		Specifications sheet containing the factory master calibration data required to calibrate the test.
1 Package insert		

* This product has been tested and shown to be negative for HBs surface antigen, antibodies to HIV1, HIV2 and HCV. However, since no existing test method can totally guarantee their absence, this product must be treated as potentially infectious. Therefore, usual safety procedures should be observed when handling.

DESCRIPTION

Each VIDAS HPY test requires one HPY Reagent Strip and one HPY SPR.

The SPR

The interior of the SPR is coated during production with purified *H. pylori* antigens. Each SPR is identified by the HPY code. Only remove the required number of SPRs from the pouch and **reseal the pouch correctly after opening**.

The strip

The strip consists of 10 wells covered with a labeled, foil seal. The label comprises a bar code which mainly indicates the assay code, kit lot number and expiration date. The foil of the first well is perforated to facilitate the introduction of the sample. The last well of each strip is a cuvette in which the fluorometric reading is performed. The wells in the center section of the strip contain the various reagents required for the assay.

Description of the strip

Wells	Reagents
1	Sample Well.
2	Sample Diluent: TRIS buffered saline (0.05 mol/l, pH 7.4) + protein stabilizers + 1 g/l sodium azide (600 µl).
3	Pre-wash buffer: TRIS buffered saline (0.05 mol/l, pH 7.4) + protein stabilizers + 1 g/l sodium azide (400 µl).
4 - 5 - 7	Wash buffer: TRIS buffered saline (0.05 mol/l) + detergent + 1g/l sodium azide (600 µl).
6	Conjugate: a titered mixture of alkaline phosphatase labeled mouse monoclonal anti-human IgG + 1 g/l sodium azide (400 µl).
8	Wash buffer: DEA buffer (360 mmol/l) + 1g/l sodium azide (600 µl).
9	Sample diluent: TRIS buffer (0.05 mol/l, pH 7.4) + protein stabilizers + 1 g/l sodium azide (300 µl).
10	Cuvette with substrate: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0.6 mmol/l) + diethanolamine DEA* (0.62 mol/l or 6.6%) pH 9.2 + 1 g/l sodium azide (300 µl).

*** IRRITANT reagent:**
- **R 36 :** Irritating to eyes.
  S 26 : In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.

For further information, refer to the Safety Data Sheet available on request.

MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Pipette with disposable tip calibrated to dispense 100 µl.
- Powderless, disposable gloves.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use only.**
- **For professional use only.**
- **This kit contains products of human origin. No known analysis method can totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (see Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - latest edition).**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- Consider all patient specimens potentially infectious and observe routine biosafety precautions. Dispose of all used components and other contaminated materials by acceptable procedures for potentially biohazardous human blood products (10-12).
- Do not use the SPRs if the pouch is pierced.
- Do not use visibly deteriorated STRs (damaged foil or plastic).
- Do not use reagents after the expiration date indicated on the label.
- Do not mix reagents (or disposables) from different lots.
- Use **powderless** gloves, as powder has been reported to cause false results for certain enzyme immunoassay tests.
- Kit reagents contain sodium azide which can react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. If any liquid containing sodium azide is disposed of in the plumbing system, drains should be flushed with water to avoid build-up.
- The substrate in well 10 contains an irritant agent (6.6% diethanolamine). Refer to the risk phrase “R” and the precautions “S” above.

- Spills should be wiped up thoroughly after treatment with liquid detergent and a solution of household bleach containing at least 0.5% sodium hypochlorite. See the Operator's Manual for cleaning spills on or in the instrument. Do not autoclave solutions containing bleach.
- The VIDAS and mini VIDAS instruments should be regularly cleaned and decontaminated (see the Operator's Manual).

STORAGE CONDITIONS

- Store the VIDAS HPY kit at 2-8°C.
- **Do not freeze reagents.**
- **Store all unused reagents at 2-8°C.**
- After opening the kit, check that the SPR pouch is correctly sealed and undamaged. If not, do not use the SPRs.
- **Carefully reseal the pouch with the desiccant inside after use to maintain stability of the SPRs and return the complete kit to 2-8°C.**
- If stored according to the recommended conditions, all components are stable until the expiration date indicated on the label.

SPECIMENS

Specimen type and collection:

VIDAS HPY test should be performed on sera or plasma (EDTA), that should not be hemolyzed or contaminated.
Do not heat the serum. Samples containing particulate matter should be clarified by centrifugation or filtration prior to testing.

Although data indicated no interference to hemoglobin (500 mg/dl), lipids (2.0 mg/ml), or bilirubin (30 mg/dl), use of hemolyzed, icteric, or lipemic specimens is not recommended. If possible, a new specimen should be collected.

Specimen stability

If a specimen is not tested on the day of collection, it can be stored at 2-8°C for up to 5 days; if longer storage is required, freeze at -25 ± 6°C for up to 2 months. Do not exceed two freezing and thawing cycles. Do not test specimens with obvious microbial contamination.

INSTRUCTIONS FOR USE

For complete instructions, see the VIDAS or mini VIDAS Operator's Manual

Master lot data entry

Before each new lot of reagents is used, specifications (or factory master calibration curve data) must be entered into the instrument (VIDAS or mini VIDAS) using the master lot entry (MLE) card (specifications sheet) included in each kit. If this operation is not performed **before initiating the tests**, the instrument will not be able to print results. The master lot data need only be entered once for each lot.
It is possible to enter data automatically using the MLE card or manually.

Calibration

Calibration, using the standard provided in the kit, must be performed each time a new lot of reagents is opened, after the master lot data have been entered. Calibration should then be performed every 14 days. This operation provides instrument-specific calibration curves and compensates for possible minor variations in assay signal throughout the shelf-life of the kit.
The standard, identified by S1, must be tested in **duplicate** (see Operator's Manual). The standard value must be within the set RFV "Relative Fluorescence Value" range. If this is not the case, recalibrate.

Procedure

1. **Only remove the required reagents from the refrigerator and allow them to come to room temperature for at least 30 minutes.**
2. Use one "HPY" strip and one "HPY" SPR for each sample, control or standard to be tested. **Make sure the storage pouch has been resealed after the required SPRs have been removed.**
3. Type or select "HPY" to enter the test code. The standard must be identified by "S1", and tested in **duplicate**. If the positive control is to be tested, it should be identified by "C1". If the negative control needs to be tested, it should be identified by "C2".
4. Mix the standard, controls and samples using a Vortex-type mixer.
5. Pipette **100 µl** of standard, sample or control into the sample well.
   (**NOTE**: Check the sample wells for bubbles after pipetting and tap gently to remove any present.).
6. Insert the SPRs and strips into the instrument. Check to make sure the color labels with the assay code on the SPRs and the Reagent Strips match.
7. Initiate the assay as directed in the Operator's Manual. All the assay steps are performed automatically by the instrument. The assay will be completed within approximately 35 minutes.
8. After the assay is completed, remove the SPRs and strips from the instrument.
9. Dispose of the used SPRs and strips into an appropriate receptacle.

RESULTS

Once the assay is completed, results are analyzed automatically by the computer. Fluorescence is measured twice in the Reagent Strip's reading cuvette for each sample tested. The first reading is a background reading of the substrate cuvette before the SPR is introduced into the substrate. The second reading is taken after incubating the substrate with the enzyme remaining on the interior of the SPR. The RFV (Relative Fluorescence Value) is calculated by subtracting the background reading from the final result.

TV= Test Value = patient RFV / standard RFV

The Test Value is then compared to a threshold stored by the instrument and a final result is interpreted.

Interpretation of test results based on Test Value is as follows:
Results with test values less than the lower threshold indicate that the patient does not have detectable anti-*H. pylori* antibodies.

Thresholds and Interpretation of Results

Test Value Threshold	Interpretation
TV < 0.75	Negative
0.75 ≤ TV < 1.00	Equivocal
TV ≥ 1.00	Positive

A report is printed which records:
- the type of test performed,
- the sample identification,
- the date and time,
- the lot number and expiration date of the kit reagent being used,
- each sample's RFV, test value and interpreted result.

The imprecision inherent in any method implies a lack of confidence in samples with test values very close to the thresholds. Consequently, an equivocal zone is established between the thresholds based on a statistical understanding of this imprecision.
Samples with test values that are greater than or equal to the high threshold are reported as positive.
Samples with test values between 0.75 and 1.00 should be repeated with the original specimen, if available. If the original specimen is not available, obtain a fresh specimen and repeat the assay.
If the sample repeats as an equivocal, clinical information and other available laboratory tests should be considered.
Invalid results are reported when the background reading is above a predetermined cutoff (indicating low-level substrate contamination). In this case, repeat the assay with the original specimen.
An invalid result is also seen if there is no standard available for the lot number of the patient test strip. In this case, run a standard in duplicate in HPY strips with the same lot number as the invalid patient test. The patient test result can then be recalculated using the new stored standard.
(Refer to the Operator's Manual for a detailed explanation).

QUALITY CONTROL

One positive control and one negative control are included in each VIDAS HPY kit.
These controls must be performed immediately after opening a new kit to ensure that reagent performance has not been altered. Each calibration must also be checked using these controls. The instrument will only be able to check the control values if they are identified by C1 and C2. The positive and negative controls must be tested following Good Laboratory Practices.
Results cannot be validated if the control values deviate from the expected values.
The expected value range for the kit standard is entered into the VIDAS system via the MLE card. Out-of-range standard values will be flagged as invalid and the system is unable to calculate control and patient RFV and Test Value (TV).

Note

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

1. The VIDAS HPY assay should be used only to evaluate patients with clinical signs and symptoms of gastroduodenal disease and is not intended for use with asymptomatic patients.
2. As with any diagnostic test, results from the VIDAS HPY IgG test should be interpreted in conjunction with other laboratory and clinical data available to the clinician.
3. A positive HPY assay result does not distinguish between active infection and colonization with *H. pylori*.
4. A positive HPY assay result only indicates presence of IgG antibodies to *H. pylori* and does not necessarily indicate that gastroduodenal disease is present.
5. A negative HPY assay result indicates either that IgG antibodies to *H. pylori* are not present or that they are at a level not detectable by the HPY assay.
6. Performance has not been demonstrated for monitoring the effects of antimicrobial therapy for treatment of *H. pylori*.
7. The assay has not been established for patients under 18 years of age.
8. Interference may be encountered with certain sera containing antibodies directed against reagent components. For this reason, assay results should be interpreted taking into consideration the patient's history, and the results of any other tests performed.

RANGE OF EXPECTED VALUES

H. pylori infection has been found worldwide, but geographical distribution of prevalence varies widely. It is always higher in developing countries (70 - 90%) than in industrialized countries (20 - 30%), higher prevalence being associated with low socio-economic levels. In Caucasian populations in the United States and other industrialized countries, *H. pylori* infection is infrequent in childhood but with each year of age the prevalence increases 0.5 - 2%, reaching about 50% in those who are 60 or older. Prevalence rates appear to be higher in blacks and Hispanics than in whites (13, 14). The frequency of *H. pylori* infection in patients diagnosed with duodenal ulcers is approximately 80% in all age groups (15).

In a random population of 200 apparently healthy blood donors tested using VIDAS HPY, the positive rate was 27.5% with an equivocal rate of 5.5%.
Expected values for a given population should be determined for each laboratory. The positivity rate for any test may vary depending upon factors such as geographical location, age, sex of population studied, season of year, specimen collection and handling procedures, etc.

PERFORMANCE

A total of 247 frozen serum specimens and 100 freshly collected serum samples were used to evaluate VIDAS HPY sensitivity and specificity performance.

Two hundred and four frozen serum specimens were well characterized by culture. Ninety-nine specimens were considered negative for *H. pylori* and 105 specimens were considered positive.

Forty-three frozen serum specimens were defined by histology. Twenty-six specimens were considered negative and 17 specimens were considered positive.

The same 247 frozen serum specimens and 100 freshly collected serum specimens were also evaluated by a competitor EIA method.

Table 1

204 Culture defined serum samples

Table 1

		Culture	
		+	**-**
VIDAS HPY	**+**	103	9
	E	0	1
	-	2	89

1 VIDAS equivocal (not included in calculations)

Clinical Sensitivity 98.10%
95% CI 93.12% - 99,77%

Clinical Specificity 90.82%
95% CI 83.28% - 95.71%
CI: Confidence Interval

Table 2

43 Histology stain defined serum samples

Table 2

		Histology	
		+	**-**
VIDAS HPY	**+**	17	0
	-	0	26

Percent Positive Agreement	17/17	100%
Percent Negative Agreement	26/26	100%
Concordance of Results	43/43	100%

Table 3

247 Serum samples evaluated by a competitor EIA method.

Table 3

		EIA	
		+	**-**
VIDAS HPY	**+**	118	11**
	E* **	1	1
	-	2*	114

2 VIDAS equivocals (not included in calculations)

Percent Positive Agreement	118/120	98.3%
Percent Negative Agreement	114/125	91.2%
Concordance of Results	232/245	94.7%

* Two serum specimens, competitor EIA positive/VIDAS HPY negative, were negative by culture.

**Seven serum specimens, competitor EIA negative/VIDAS HPY positive, were negative by culture. One serum specimen, competitor EIA negative/VIDAS HPY positive, was positive by culture. Three serum specimens, competitor EIA negative/VIDAS HPY positive, were positive by histology.

***One serum specimen, competitor EIA positive/VIDAS HPY equivocal, was negative by culture. One serum specimen, competitor EIA negative/VIDAS HPY equivocal, was negative by culture.

Table 4

100 Freshly collected serum samples defined by another EIA method

Table 4

		EIA	
		+	-
VIDAS HPY	**+**	30	6
	E	1	0
	-	1	62

1 VIDAS equivocal (not included in calculations)

Percent Positive Agreement	30/31	96.8%
Percent Negative Agreement	62/68	91.2%
Concordance of Results	92/99	92.9%

Discrepant results were not reevaluated by another *H. pylori* detection method.

REPRODUCIBILITY

VIDAS HPY reproducibility was demonstrated using a 6-member panel of pooled specimens, consisting of 2 negative, 2 low positive and 2 positive pools. This panel was run at three sites. Each pool was run 10 times in one instrument run over three days. The results of combined within run and total imprecision are shown in Table 5.

The VIDAS test value (TV) was used. Coefficient of Variation (%CV) is not presented for the negative pools, instead the Standard Deviation (SD) is presented as the measure of variability. Results are presented according to the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Table 5 (All Sites)

		Negative		Low positive		High positive	
N		90	90	90	90	90	90
Mean TV		0.32	0.22	1.75	1.33	9.39	5.39
With-in run	**SD**	0.02	0.01	0.07	0.06	0.25	0.20
	%CV	5.8	6.3	3.9	4.7	2.7	3.8
Between	**SD**	0.05	0.02	0.08	0.08	0.44	0.78
Day	**%CV**	16.1	11.0	4.5	6.0	4.6	14.4
Total imprecision	**SD**	0.05	0.12	0.25	0.21	1.67	0.78
Between sites	**%CV**	NA	NA	14.2	15.5	17.8	14.4

NA=Not applicable

CROSS REACTIVITY

	VIDAS HPY
R.F. +	1/18
A.N.A.+	2/14
MNI +	0/19
Influenza +	0/11
HSV +	1/16
Toxoplasmosis IgG +	0/14
Syphilis +	0/10
CMV IgG +	0/12
Lupus erythematosus +	0/3

A total of 122 samples negative for anti- *H. pylori* antibodies (using a competitor EIA method) were tested: 5 equivocal VIDAS HPY results were excluded from the table (1 equivocal RF +, 2 equivocal ANA +, 1 equivocal influenza +, 1 equivocal toxoplasmosis IgG +).

ASSAY SPECIFICITY

To test for assay specificity, test organisms were pre-incubated in a pool of human anti-*H. pylori* positive serum and tested in triplicate.
The tested organisms are listed below and showed no unexpected results in the VIDAS HPY assay. The seropositive serum remained positive after absorption with every organism except *H. pylori* strain.

Bacteroides fragilis
Borrelia burgdorferi
Campylobacter coli
Campylobacter fetus fetus
Campylobacter fetus venerealis
Campylobacter hyointestinalis
Campylobacter jejuni
Campylobacter lari
Campylobacter rectus
Candida albicans
Citrobacter freundii
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Helicobacter cinaedi
Helicobacter pylori
Klebsiella pneumoniae
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas fluorescens
Salmonella minnesota
Serratia liquefaciens
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Wolinella succinogenes
Yersinia enterocolitica

WASTE DISPOSAL

Dispose of used or unused reagents as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.
It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their nature and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

LITERATURE REFERENCES

1. BUCK, G.E. 1990. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Clin. Microbiol. Rev. 3:1-12.
2. MARSHALL, B.J. and J.R. WARREN. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet I:1311-1314.
3. PETERSON, W.L. 1991. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. New England J. Med. 324(15):1043-1048.
4. BLASER, M.J. 1992. Hypothesis on the Pathogenesis and Natural History of *Helicobacter pylori*-Induced Inflammation. Gastroenterology. 102:720-727.
5. TAYLOR, D.N. and M.J. BLASER. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiol. Rev. 13:42-59.
6. MARSHALL. B.J. et al. 1988. Carbon-14 urea breath test for diagnosis of *Campylobacter pylori* associated gastritis. J. Nucl. Med. 29:11-16.
7. WILCOX, M.H. et al. 1996. Accuracy of serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection - a comparison of eight kits. J. Clin. Pathol. 49:373-376.
8. GRAHAM, D.Y. et al. 1987. *Campylobacter pylori* detected non-invasively by the C-13 urea breath test. Lancet 23:1174-1177.
9. TALLEY, N.J. et al. 1991. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. J. Clin. Microbiol. 29:1635-1639.
10. U.S. Department of Heath and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
11. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard, M29-A. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazard and /Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. NCCLS, Wayne Pa.
13. DOOLEY, C.P. et al. 1989. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. New England J. Med. 321:1562-1566.
14. GRAHAM, D.Y. et al. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology. 100:1495-1501.
15. LOFFELD, R.J., et al. 1991. The prevalence of anti-*Helicobacter (Campylobacter) pylori* antibodies in patients and healthy blood donors. J. Med. Microbiol. 32:105-109.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol	Meaning
REF or REF	GB : Catalogue number US : Catalog number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Manufacturer
	Temperature limitation
	Use by
LOT	Batch code
	Consult Instructions for Use
Σ	Contains sufficient for <n> tests

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABLITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.
VIDAS is a registered trademark of bioMérieux.



bioMérieux® sa
au capital de 11 879 045 €
673 620 399 RCS LYON

69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com



Printed in France

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY)

IVD

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY) ist ein automatisierter Test für die VIDAS-Linie zum qualitativen Nachweis von *Heliobacter pylori* IgG Antikörpern in Humanserum oder -plasma (EDTA) durch die ELFA-Technik (Enzyme Linked Fluorescent Assay). VIDAS® HPY dient als diagnostisches Hilfsmittel für den Nachweis von *H. pylori* Infektionen bei symptomatischen Erwachsenen.

EINFÜHRUNG UND TESTERKLÄRUNG

Helicobacter pylori (früher *als Campylobacter pylori* bezeichnet) ist ein mikroaerophiles, spiralförmiges Bakterium, das Entzündungen der Magenschleimhaut (Gastritis) und bei manchen Patienten auch Geschwüre hervorruft. Die Infektion kann außerdem an der Entstehung von Magenkrebs beteiligt sein (1, 2, 3). Patienten mit einer *H. pylori* Symptomatik gelten als infiziert, während man bei asymptomatischen *H. pylori* Trägern von Besiedelung spricht. Die Mehrzahl der Patienten mit *H. pylori* Besiedelung entwickeln nie Geschwüre und bleiben asymptomatisch, trotz der jahrelangen, wahrscheinlich sogar jahrzehntelangen Besiedelung (4, 5).
Es gibt invasive und nicht invasive Methoden zum Nachweis von *H. pylori*. Gewebebiopsien aus der Magenschleimhaut oder dem Zwölffingerdarm werden werden normalerweise endoskopisch gewonnen und anschließend gefärbt, kultiviert und/oder auf die Anwesenheit von Urease hin untersucht.

Eine ungleichmäßige Besiedelung der Schleimhaut mit *H. pylori* oder die Gewinnung von Gewebeproben mit nicht lebensfähigen oder nicht Urease-bildenden *H. pylori* kann bei infizierten Personen zu falsch negativen Ergebnissen führen (6). Invasive Methoden wie die Endoskopie sind für den Patienten unangenehm, mit Risiken verbunden und darüber hinaus kostenintensiv.
Zu den nicht invasiven Methoden gehören Harnstoff-Atemtests und serologische Methoden. Der Harnstoff-Atemtest weist die Anwesenheit von *H. pylori* über dessen starke Ureaseaktivität nach. Mit C-14 oder C-13 markierter Harnstoff wird vom Patienten eingenommen, anschließend wird über die Atemluft ausgeschiedenes Kohlendioxid radiometrisch oder massenspektrometrisch bestimmt. Nachteile dieser Methode sind die Exposition des Patienten gegenüber Radioisotopen und die erforderliche kostspielige Laborausrüstung (6, 7, 8).
Patienten, die mit *H. pylori* infiziert sind, bilden Serumantikörper, die mit dem Vorliegen histologisch bestätigter *H. pylori* Infektionen korrelieren.
Serologische Methoden (wie Enzymimmunoassays) sind nicht-invasiv, kostengünstig, schnell, einfach durchführbar und - wichtigster Vorteil im Vergleich zu den invasiven Methoden - unabhängig von der Güte der Probengewinnung (7, 9).

PRINZIP

Das Testprinzip kombiniert eine immunenzymatische Methode mit einer abschließenden Fluoreszenzmessung (ELFA). Alle Reaktionsschritte sowie die Testtemperatur werden automatisch vom Gerät kontrolliert. Der Festphasenrezeptor dient gleichzeitig als Festphase und Pipettiersystem für den Test. Die Testreagenzien befinden sich gebrauchsfertig im Reagenzienriegel.
Nach einem ersten Wasch- und Probenverdünnungsschritt wird die Probe über einen bestimmten Zeitraum mehrfach in den FPR aspiriert und wieder abgegeben. In der Probe vorhandene *H. pylori* IgG Antikörper binden spezifisch an das im FPR fixierte *H. pylori* Antigen. Ungebundene Bestandteile werden durch Waschen entfernt.
Mit alkalischer Phosphatase markierte Anti-humane IgG Antikörper werden mehrfach in den FPR aspiriert und wieder abgegeben und binden an das im FPR gebundene humane IgG.
Ein letzter Waschschritt entfernt ungebundenes anti-humanes Antikörperkonjugat.
Während des letzten Nachweisschrittes wird das Substrat (4-Methyl-umbelliferyl-phosphat) mehrfach in den FPR aspiriert und wieder abgegeben. Das Enzymkonjugat katalysiert die Hydrolyse des Substrates in ein fluoreszierendes Produkt (4-Methyl-umbelliferon), dessen Fluoreszenz bei 450 nm gemessen wird. Die Intensität der Fluoreszenz wird von dem optischen Scanner im VIDAS Gerät gemessen. Nach Beendigung des Tests werden die Ergebnisse automatisch vom VIDAS-Gerät analysiert. Für jede Probe wird ein Testwert berechnet und ein Ergebnisbericht ausgedruckt.

PACKUNGSINHALT (30 TESTS):

30 HPY Reagenzienriegel	STR	Gebrauchsfertig.
30 HPY Festphasen-rezeptoren (1 x 30)	SPR	Gebrauchsfertig. Mit gereinigtem *H. pylori* Antigen beschichtete FPR.
HPY Standard (1 x 2 ml)	S1	Humanserum*, das *H. pylori* Antikörper enthält + Natriumazid 1 g/l. Der Vertrauensbereich in RFV (Relative Fluorescence Value) ist auf der MLE Karte nach dem Vermerk : "Standard (S1) RFV Range" angegeben.
HPY Positivkontrolle (1 x 1,5 ml)	C1	Gebrauchsfertig. Humanserum*, das *H. pylori* Antikörper enthält + Natriumazid 1 g/l. Der Testwert-Bereich (TV) ist auf der MLE Karte nach dem Vermerk : "Control C1 Test Value Range" angegeben.
HPY Negativkontrolle (1 x 1,5 ml)	C2	Gebrauchsfertig. Humanserum*, das keine *H. pylori* Antikörper enthält + Natriumazid 1 g/l. Der Testwert-Bereich (TV) ist auf der MLE Karte nach dem Vermerk : "Control C2 Test Value Range" angegeben.
1 MLE Karte		Karte mit den für die Testkalibration erforderlichen Master Lot Daten.
1 Arbeitsanleitung		

* Die Abwesenheit von HBs-Oberflächenantigen, HIV-1, HIV-2 und HCV-Antikörpern wurde überprüft. Da keine Testmethode die Abwesenheit dieser Agenzien völlig gewährleisten kann, muss dieses Produkt als potenziell infektiös betrachtet und unter Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen sachgemäß behandelt werden.

BESCHREIBUNG

Für jeden VIDAS HPY Test ist ein HPY Reagenzienriegel und ein HPY FPR erforderlich.

Der Festphasenrezeptor:

Der FPR wird bei der Herstellung mit gereinigtem *H. pylori* Antigen beschichtet. Jeder FPR ist mit dem Code HPY gekennzeichnet. Nehmen Sie nur die benötigte Anzahl FPR aus dem Beutel. Nicht benötigte FPR im Beutel lassen und **diesen nach jedem Gebrauch gut verschließen.**

Der Reagenzienriegel

Der etikettierte Reagenzienriegel besteht aus 10 folienversiegelten Küvetten. Auf dem Etikett sind der Testcode, die Chargennummer und das Verfallsdatum des Kits im Barcode festgehalten. Die erste Küvette ist perforiert, um das Einpipettieren der Probe zu erleichtern. In der letzten, durchsichtigen Küvette wird die photometrische Messung durchgeführt. Die mittleren Küvetten beinhalten die verschiedenen Testreagenzien.

Beschreibung des Reagenzienriegels

Küvetten	Reagenzien
1	Probenküvette.
2	Probendiluent: TRIS Puffer (0,05 mol/l, pH 7,4) + Proteinstabilisatoren + Natriumazid 1 g/l (600 µl).
3	Vorwaschpuffer: TRIS Puffer (0,05 mol/l, pH 7,4) + Proteinstabilisatoren + Natriumazid 1 g/l (400 µl).
4 - 5 - 7	Waschpuffer: TRIS Puffer (0,05 mol/l) + Detergenz + Natriumazid 1 g/l (600 µl).
6	Konjugat: titrierte Mischung aus monoklonalen Anti-humanen IgG Antikörpern (Maus), die mit alkalischer Phosphatase markiert sind + Natriumazid 1 g/l (400 µl).
8	Waschpuffer: DEA Puffer (360 mmol/l) + Natriumazid 1 g/l (600 µl).
9	Probendiluent: TRIS Puffer (0,05 mol/l, pH 7,4) + Proteinstabilisatoren + Natriumazid 1 g/l (300 µl).
10	Messküvette mit Substrat: 4-Methyl-umbelliferyl-phosphat (0,6 mmol/l) + Diäthanolamin DEA* (0,62 mol/l bzw. 6,6 %) pH 9,2 + Natriumazid 1 g/l (300 µl).

***REIZENDES Reagenz:**
- **R 36**: Reizt die Augen.
- **S 26**: Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.

Weitere Informationen entnehmen Sie dem Sicherheitsdatenblatt, das auf Anfrage erhältlich ist.

ZUSÄTZLCH ERFORDERLICHE MATERIALIEN

- 100 µl Pipette mit Einwegspitzen.
- Ungepuderte Einweghandschuhe.

VORSICHTSMASSNAHMEN

- **Nur für die *in vitro* Diagnostik**
- **Nur für die Verwendung durch Fachkundige bestimmt.**
- **Dieser Kit enthält Bestandteile humanen Ursprungs. Bislang gibt es kein bekanntes Verfahren mit dem völlig gewährleistet werden kann, dass diese Produkte keine übertragbaren pathogenen Agenzien enthalten. Es ist empfehlenswert, sie als potenziell infektiös zu betrachten und unter Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen sachgemäß zu behandeln (siehe Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - letzte Ausgabe).**
- Dieser Kit enthält Bestandteile tierischen Ursprungs. Da durch die Kontrolle der Herkunft und/oder des Gesundheitszustandes der Tiere nicht völlig gewährleistet werden kann, dass diese Produkte keine übertragbaren pathogenen Agenzien enthalten, ist es empfehlenswert, diese als potenziell infektiös zu betrachten und unter Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln (nicht einnehmen, nicht einatmen).
- Alle Patientenproben müssen als potenziell infektiös betrachtet und unter Beachtung der üblichen Vorsichtsmaßnahmen behandelt werden. Entsorgen Sie gebrauchte Bestandteile und andere kontaminierte Materialien gemäß den für potenziell infektiöse humane Produkte geltenden Vorsichtsmaßnahmen (10-12).
- FPR aus beschädigten (perforierten) Beuteln nicht verwenden.
- Reagenzienriegel mit sichtbaren Beschädigungen (der Aluminiumfolie oder des Kunststoffes) nicht verwenden.
- Die Reagenzien nach Ablauf des auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Reagenzien (oder Verbrauchsmaterialien) aus unterschiedlichen Chargen nicht mischen.
- Verwenden Sie **ungepuderte** Einweg-Handschuhe, da Puder bei einer Reihe von Enzymimmunoassays zu falschen Ergebnissen geführt hat.
- Die Reagenzien enthalten ein Konservierungsmittel (Natriumazid), das mit Blei- oder Kupferrohren zu explosiven Metallaziden reagieren kann. Beim Ableiten in die Kanalisation sollten die Reagenzien immer mit reichlich Wasser verdünnt werden.
- Das Substrat (Küvette 10) enthält ein reizendes Agenz (6,6% Diäthanolamin). Beachten Sie den oben genannten Gefahrenhinweis „R" und die Sicherheitsratschläge „S".

- Verschüttete oder übergelaufene Flüssigkeiten mit flüssigem Detergenz oder einer Haushaltsbleichlösung mit mindestens 0,5% Natriumhypochlorit zur Inaktivierung infektiösen Materials behandeln. Bei Verunreinigung auf oder im VIDAS-Gerät folgen Sie bitte den Anweisungen des Handbuches. Lösungen, die Bleichmittel enthalten, dürfen nicht in den Autoklaven gestellt werden.
- Das VIDAS- und das mini VIDAS-Gerät regelmäßig reinigen und dekontaminieren (siehe Benutzerhandbuch).

LAGERUNGSBEDINGUNGEN

- Den VIDAS HYP Kit bei 2-8°C lagern.
- **Die Reagenzien nicht einfrieren.**
- **Nicht gebrauchte Reagenzien bei 2-8°C lagern.**
- Überprüfen Sie nach dem Öffnen des Kits den (die) FPR-Beutel. Beutel, die nicht korrekt verschlossen oder die beschädigt sind, dürfen nicht verwendet werden.
- **Den FPR-Beutel mit dem Trockenmittel nach jedem Gebrauch wieder sorgfältig verschließen, um die Haltbarkeit der FPR nicht zu beeinträchtigen und den gesamten Kit wieder bei 2-8°C lagern.**
- Unter den empfohlenen Lagerungsbedingungen sind alle Kitbestandteile bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar.

PROBEN

Probenart und Probengewinnung:

Für den VIDAS HPY Test muss hämolysefreies und nicht kontaminiertes Serum oder Plasma (EDTA) verwendet werden.
Die Seren nicht erhitzen. Proben, die Partikel enthalten, müssen vor der Testung zentrifugiert oder filtriert werden.

Obwohl keine Interferenzen mit Hämoglobin (500 mg/dl), Lipiden (2.0 mg/ml), oder Bilirubin (30 mg/dl) festgestellt wurden, ist der Gebrauch hämolysierter, ikterischer oder lipämischer Proben nicht empfehlenswert. Fordern Sie in diesem Fall falls möglich eine neue Probe an.

Haltbarkeit der Proben

Proben, die nicht am Tag der Probenentnahme getestet werden, können bei 2-8°C maximal für 5 Tage gelagert werden. Zur längeren Aufbewahrung frieren Sie die Probe bei -25 ± 6°C bis zu 2 Monate ein. Nicht mehr als zweimal Einfrieren und Auftauen. Proben mit sichtbarer mikrobieller Verunreinigung sollten nicht getestet werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Ausführliche Informationen entnehmen Sie dem VIDAS oder mini VIDAS Benutzerhandbuch.

Eingabe der Master Lot Daten

Für jede neue Charge müssen **vor Testbeginn** die Master Lot Daten (Master Lot Entry) mit der mitgelieferten MLE-Karte in das Gerät (VIDAS oder mini VIDAS) eingegeben werden, andernfalls kann das Gerät keine Ergebnisse ausdrucken. Die Master Lot Daten werden für jede Charge nur einmal eingegeben.
Die Dateneingabe mit der MLE-Karte kann automatisch oder manuell durchgeführt werden.

KALIBRATION

Für jede neue Reagenziencharge muss mit dem in der Packung enthaltenen Standard nach der Eingabe der chargenspezifischen Daten (MLE-Karte) eine Kalibration durchgeführt werden. Die Rekalibration wird anschließend 14-tägig durchgeführt. Dadurch wird die Eichkurve gerätespezifisch justiert und eventuelle lagerungsbedingte Veränderungen des Reagenzes kompensiert.
Der mit S1 identifizierte Standard wird **doppelt** getestet (siehe Benutzerhandbuch). Der Wert des Standards muss innerhalb des festgelegten RFV-Bereiches („Relativer Fluoreszenz Wert“) liegen. Ist dies nicht der Fall, wiederholen Sie die Kalibration.

Testdurchführung

1. **Nehmen Sie nur die erforderlichen Reagenzien aus dem Kühlschrank und lassen Sie sie vor Gebrauch mindestens 30 min. bei Raumtemperatur stehen.**
2. Verwenden Sie für jede zu testende Probe bzw. Kontrolle oder Standard einen „HPY“ Reagenzienriegel und einen „HPY“ FPR. **Vergewissern Sie sich, dass der Beutel mit den FPR nach jedem Gebrauch wieder gut verschlossen wird.**
3. Drücken oder wählen Sie „HPY“, um den Testcode einzugeben. Der Standard muss unbedingt mit „S1“ identifiziert und **doppelt** getestet werden. Wenn die Positivkontrolle getestet werden soll, identifizieren Sie diese mit C1. Wenn die Negativkontrolle getestet werden soll, identifizieren Sie diese mit C2.
4. Den Standard, die Kontrollen und die Proben auf dem Vortex homogenisieren.
5. Pipettieren Sie **100 µl** Standard, Probe oder Kontrolle in die Probenküvette.
   (**Hinweis:** Vergewissern Sie sich, dass nach dem Pipettieren keine Bläschen in der Probenküvette sind. Klopfen Sie gegebenenfalls leicht gegen den Reagenzienriegel, um Bläschen zu entfernen).
6. Führen Sie die FPR und Reagenzienriegel in das Gerät ein. Vergewissern Sie sich, dass die Farb- und Buchstabencodierung auf dem FPR-Etikett mit der auf dem Reagenzienriegel übereinstimmt.
7. Starten Sie den Test (siehe Benutzerhandbuch). Alle weiteren Schritte werden automatisch vom VIDAS-Gerät durchgeführt. Die Ergebnisse liegen nach ca. 35 min vor.
8. Nehmen Sie nach Beendigung des Tests die FPR und Riegel aus dem Gerät.
9. Entsorgen Sie die FPR und Reagenzienriegel nach Gebrauch in einem geeigneten Abfallbehälter.

ERGEBNISSE

Nach Beendigung des Tests werden die Ergebnisse automatisch vom VIDAS-Gerät ausgewertet. Für jede Probe werden zwei Fluoreszenzmessungen in der Messküvette des Reagenzienriegels durchgeführt. Die erste Messung ist eine Hintergrundmessung der Küvette und des Substrates, bevor der FPR in das Substrat eintaucht. Die zweite Messung erfolgt nach der Inkubation des Substrates mit dem im FPR vorhandenen Enzymkonjugat. Aus der Differenz beider Messungen ergibt sich ein relativer Fluoreszenzwert (RFV), der auf dem Ergebnisblatt ausgedruckt wird.
Zur Berechnung des Testwertes wird der RFV der Probe durch den RFV des Standards dividiert:

TV = Testwert = RFV Probe/ RFV Standard

Der Testwert wird anschließend mit einem gespeicherten Grenzwert verglichen und das Endergebnis interpretiert.

Die Testergebnisse werden in Bezug zum Testwert folgendermaßen interpretiert:
Ergebnisse, deren Testwerte unterhalb des Grenzwertes liegen, zeigen an, dass der Patient keine nachweisbaren *H.pylori* Antikörper hat.

Grenzwert und Interpretation der Ergebnisse

Testwert	Interpretation
TV < 0,75	negativ
0,75 ≤ TV < 1,00	grenzwertig
TV ≥ 1,00	positiv

Der Ergebnisausdruck enthält folgende Angaben:
- Testart,
- Probenidentifikation,
- Datum und Uhrzeit,
- Chargennummer und Verfallsdatum des Kits,
- für jede Probe: den RFV, den Testwert und die Interpretation

Aufgrund der jeder Methode innewohnenden Ungenauigkeit sollten Testwerte, die nahe am Grenzbereich liegen, mit Vorsicht interpretiert werden; entsprechend wurde ein Grenzbereich zwischen den Grenzwerten geschaffen, welcher die statistische Ungenauigkeit berücksichtigt.
Proben mit Testwerten größer oder gleich dem oberen Grenzwert werden als positiv interpretiert.
Bei Testwerten zwischen 0,75 und 1,00 wiederholen Sie den Test falls möglich mit der Originalprobe. Falls dies nicht möglich ist, fordern Sie eine neue Probe an und wiederholen Sie den Test. Ergibt sich erneut ein zweifelhaftes Ergebnis, müssen klinische Informationen und andere Labortests mit in die Beurteilung einbezogen werden.
Die Ergebnisse sind ungültig, wenn die Hintergrundfluoreszenz (HGF) über dem festgelegten cut-off liegt (der eine geringe Substratkontamination anzeigt). Wiederholen Sie in diesem Fall den Test mit der Originalprobe.
Die Ergebnisse sind ebenfalls ungültig, wenn für die Chargennummer des Reagenzienriegels kein gespeicherter Standard vorliegt. Führen Sie in diesem Fall mit HYP Reagenzienriegeln derselben Chargennummer eine Kalibration durch (Doppelansatz). Das Testergebnis kann dann mit diesem neu gespeicherten Standard berechnet werden.
(Weitere Informationen siehe Benutzerhandbuch).

QUALITÄTSKONTROLLE

Jeder VIDAS HPY Kit enthält eine Positiv- und eine Negativkontrolle.
Diese Kontrollen müssen für jede neu angebrochene Packung getestet werden, um einen lieferungs- und lagerungsbedingten Qualitätsverlust der Reagenzien auszuschließen. Zur Qualitätssicherung müssen diese Kontrollen außerdem nach jeder Rekalibration getestet werden. Damit das Gerät den Wert der Kontrollen überprüfen kann, müssen die Kontrollen mit C1 und C2 identifiziert werden. Testen Sie die Positiv- und Negativkontrolle gemäß den in Ihrem Labor gültigen Richtlinien.
Bei einer Abweichung der Kontrollwerte von den Sollwerten können die Ergebnisse nicht validiert werden.

Die Sollwerte des Standards werden ebenfalls mit der MLE-Karte eingegeben. Liegen die Werte des Standards außerhalb des Sollbereichs, werden diese als ungültig angezeigt. Das System kann den Testwert (TV) und den RFV der Kontrollen und Proben nicht berechnen.

Anmerkung

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Qualitätskontrolle in Übereinstimmung mit den jeweils gültigen Vorschriften durchzuführen.

LIMITIERUNGEN

1. Der VIDAS HPY Test darf nur bei Patienten mit klinischen Anzeichen einer gastroduodenalen Erkrankung und nicht bei asymptomatischen Patienten verwendet werden.
2. Wie bei jeder diagnostischen Methode, müssen die Ergebnisse des VIDAS HPY IgG Tests in Verbindung mit den Ergebnissen anderer verfügbarer Labortests und der Klinik des Patienten interpretiert werden.
3. Ein positives HPY Testergebnis differenziert nicht zwischen einer aktiven Infektion und einer Besiedelung mit *H. pylori.*
4. Ein positives HPY Testergebnis zeigt nur die Anwesenheit von *H. pylori* IgG Antikörpern und nicht unbedingt das Vorliegen einer gastroduodenalen Erkrankung an.
5. Ein negatives HPY Ergebnis zeigt an, dass entweder keine *H. pylori* IgG Antikörper vorhanden sind, oder dass diese unterhalb der Nachweisgrenze des HPY Tests liegen.
6. Die Performance des Tests für die Therapiekontrolle von *H. pylori* Infektionen (antibakterielle Therapie) wurde nicht ermittelt.
7. Die Testperformance wurde nicht für Patienten unter 18 Jahren ermittelt.
8. Bei einigen Seren, die Antikörper enthalten, die gegen die Bestandteile des Reagenzes gerichtet sind, kann es zu Interferenzen kommen. Die Ergebnisse dieses Tests müssen deshalb unter Berücksichtigung des klinischen Hintergrundes interpretiert werden.

ERWARTUNGSWERTE

H. pylori Infektionen kommen weltweit vor. Die Prävalenz zeigt jedoch große geographische Schwankungen. In den Entwicklungsländern ist sie immer höher (70-90%) als in den Industrieländern (20-30%), da höhere Prävalenzen mit niedrigen sozio-ökonomischen Grundlagen zusammenhängen. In der weißen Bevölkerung der Vereinigten Staaten und anderen industrialisierten Ländern treten bei Kindern nur sehr selten *H. pylori* Infektionen auf. Die Prävalenz steigt jedoch mit jedem Lebensjahr um 0,5 bis 2% und erreicht ca. 50% bei Personen, die 60 Jahre oder älter sind. In der schwarzen und hispanischen Bevölkerung ist die Prävalenz größer (13,14). Bei Patienten mit duodenalen Geschwüren beträgt die Häufigkeit von *H. pylori* Infektionen für alle Altersklassen ca. 80% (15).
In einer zufällig ausgewählten Population (200 Blutspender), die mit dem VIDAS HPY getestet wurde, lag die Positivrate bei 27,5% (5,5% der Ergebnisse lagen im Graubereich).
Jedes Labor sollte für seine Patientenpopulation eigene Sollwerte festlegen. Die Positivrate ist von verschiedenen Faktoren abhängig (Land, Alter, Geschlecht der untersuchten Population, Jahreszeit, Probentyp etc).

PERFORMANCE

Insgesamt wurden 247 tiefgefrorene Seren und 100 frische Seren zur Bestimmung der Sensitivität und Spezifität von VIDAS HYP getestet.

Für 204 tiefgefrorene Seren lag ein kulturelles Ergebnis vor: 99 Proben wurden als negativ bewertet und 105 als *H. pylori* positiv.

Für 43 Seren lag ein histologisches Ergebnis vor: 26 wurden als negativ und 17 als positiv bewertet.

Dieselben 247 tiefgefrorenen Seren und 100 frische Seren wurden ebenfalls mit einer kommerziellen EIA Methode getestet.

Tabelle1

204 Seren mit kulturellem Ergebnis

Tabelle1

		Kultur	
		+	**-**
VIDAS HPY	**+**	103	9
	E	0	1
	-	2	89

1 grenzwertiges VIDAS Ergebnis (nicht in den Berechnungen enthalten)

klinische Sensitivität 98,10%
KI 95% 93,12 % - 99,77 %

klinische Spezifität 90,82%
KI 95% 83,28% - 95,71%
KI = Konfidenzintervall

Tabelle 2

43 Seren mit histologischem Ergebnis

Tabelle 2

		Histologie	
		+	**-**
VIDAS	**+**	17	0
HPY	**-**	0	26

Positive Übereinstimmung %	17/17	100 %
Negative Übereinstimmung %	26/26	100 %
Übereinstimmung der Ergebnisse	43/43	100 %

Tabelle 3

247 Seren wurden mit einem kommerziellen EIA getestet.

Tabelle 3

		EIA	
		+	**-**
VIDAS HPY	**+**	118	11**
	E***	1	1
	-	2*	114

2 grenzwertige VIDAS Ergebnisse (nicht in den Berechnungen enthalten)

Positive Übereinstimmung %	118/120	98,3%
Negative Übereinstimmung %	114/125	91,2%
Übereinstimmung der Ergebnisse	232/245	94,7%

* 2 Seren, die mit dem kommerziellen EIA positiv reagierten und mit dem VIDAS HPY negativ, ergaben in der Kultur ein negatives Ergebnis.

**7 Seren, die mit dem kommerziellen EIA negativ reagierten und mit dem VIDAS HPY positiv, ergaben in der Kultur ein negatives Ergebnis. Ein Serum, das mit dem kommerziellen EIA negativ und dem VIDAS HPY positiv reagierte, ergab in der Kultur ein positives Ergebnis. 3 Seren, die mit dem kommerziellen EIA negativ und dem VIDAS HPY positiv reagierten, ergaben histologisch ein positives Ergebnis.

***Ein Serum, das mit dem kommerziellen EIA positiv und dem VIDAS HPY grenzwertig reagierte, ergab in der Kultur ein negatives Ergebnis. Ein Serum, das mit dem kommerziellen EIA negativ und dem VIDAS HPY grenzwertig reagierte, war in der Kultur negativ.

Tabelle 4

100 frische Seren wurden mit einer anderen EIA Methode getestet.

Tabelle 4

		EIA	
		+	-
VIDAS HPY	+	30	6
	E	1	0
	-	1	62

1 VIDAS grenzwertiges Ergebnis (nicht in den Berechnungen berücksichtigt)

Positive Übereinstimmung %	30/31	96,8%
Negative Übereinstimmung %	62/68	91,2%
Übereinstimmung der Ergebnisse	92/99	92,9%

Diskrepante Ergebnisse wurden mit keiner anderen *H. pylori* Nachweismethode untersucht.

REPRODUZIERBARKEIT

Die Reproduzierbarkeit des VIDAS HPY Tests wurde mit einem Panel aus 6 Probenpools (2 negative, 2 schwach positive und 2 positive Seren) ermittelt. Dieses Panel wurde in 3 Labors getestet. Jeder Pool wurde 3 Tage 10 Mal auf einem Gerät getestet. Die zusammengefassten Ergebnisse der Intra-Assay Präzision und die Gesamtpräzision sind in Tabelle 5 angegeben.

Es wurde der VIDAS Testwert (TV) verwendet. Die Variationskoeffizient (VK%) ist für die negativen Probenpools nicht angegeben, dagegen wird die Standardabweichung (SA) als Variabilitätsmaß angegeben. Die Ergebnisse werden gemäß dem National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) angegeben.

Tabelle 5 (Alle Labore)

		negativ		**schwach positiv**		**stark positiv**	
N		90	90	90	90	90	90
TV Mittelwert		0,32	0,22	1,75	1,33	9,39	5,39
Intra-Assay Präzision	**SA**	0,02	0,01	0,07	0,06	0,25	0,20
	%VK	5,8	6,3	3,9	4,7	2,7	3,8
Präzision Im Tages-vergleich	**SA**	0,05	0,02	0,08	0,08	0,44	0,78
	%VK	16,1	11,0	4,5	6,0	4,6	14,4
Gesamtpräzi-sion aller Labore	**SA**	0,05	0,12	0,25	0,21	1,67	0,78
	%VK	NA	NA	14,2	15,5	17,8	14,4

NA=nicht anwendbar

KREUZREAKTIONEN

	VIDAS HPY
RF. +	1/18
A.N.A.+	2/14
IM +	0/19
Grippe +	0/11
HSV +	1/16
Toxoplasmose IgG +	0/14
Syphilis +	0/10
CMV IgG +	0/12
Lupus erythematosus +	0/3

Insgesamt wurden 122 *H. pylori* Antikörper negative Proben (mit einem kommerziellen EIA Test) getestet: 5 VIDAS HPY grenzwertige Ergebnisse wurden aus der Tabelle genommen (1 grenzwertiges RF +, 2 grenzwertige ANA +, 1 grenzwertiges Grippe +, 1 grenzwertiges Toxoplasmose IgG +).

ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Um die Spezifität des Tests zu bestimmen, wurden Mikroorganismen in einem Pool anti-*H.pylori* positiver Humanseren vorinkubiert und anschließend in Dreifachbestimmungen getestet.

Die getesteten Organismen sind im folgenden aufgeführt und zeigten mit dem VIDAS HPY konforme Test-ergebnisse: Das seropositive Serum blieb nach der Absorption mit jedem Keim bis auf den *H. pylori*-Stamm positiv.

Bacteroides fragilis
Borrelia burgdorferi
Campylobacter coli
Campylobacter fetus fetus
Campylobacter fetus venerealis
Campylobacter hyointestinalis
Campylobacter jejuni
Campylobacter lari
Campylobacter rectus
Candida albicans
Citrobacter freundii
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Helicobacter cinaedi
Helicobacter pylori
Klebsiella pneumoniae
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas fluorescens
Salmonella minnesota
Serratia liquefaciens
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Wolinella succinogenes
Yersinia enterocolitica

BESEITIGUNG DER ABFÄLLE

Entsorgen Sie alle gebrauchten und nicht gebrauchten Reagenzien sowie kontaminierte Einwegmaterialien gemäß den für infektiöse oder potenziell infektiöse Materialien geltenden Bestimmungen.
Es liegt in der Verantwortung jedes Labors, die entstandenen Fest- und Flüssigabfälle gemäß der jeweiligen Risikogruppe zu behandeln und deren Entsorgung in Übereinstimmung mit den gültigen gesetzlichen Bestimmungen sicherzustellen.

LITERATUR

1. BUCK, G.E. 1990. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Clin. Microbiol. Rev. 3:1-12.
2. MARSHALL, B.J. and J.R. WARREN. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet I:1311-1314.
3. PETERSON, W.L. 1991. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. New England J. Med. 324(15):1043-1048.
4. BLASER, M.J. 1992. Hypothesis on the Pathogenesis and Natural History of *Helicobacter pylori*-Induced Inflammation. Gastroenterology. 102:720-727.
5. TAYLOR, D.N. and M.J. BLASER. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiol. Rev. 13:42-59.
6. MARSHALL. B.J. et al. 1988. Carbon-14 urea breath test for diagnosis of *Campylobacter pylori* associated gastritis. J. Nucl. Med. 29:11-16.
7. WILCOX, M.H. et al. 1996. Accuracy of serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection - a comparison of eight kits. J. Clin. Pathol. 49:373-376.
8. GRAHAM, D.Y. et al. 1987. *Campylobacter pylori* detected non-invasively by the C-13 urea breath test. Lancet 23:1174-1177.
9. TALLEY, N.J. et al. 1991. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. J. Clin. Microbiol. 29:1635-1639.
10. U.S. Department of Heath and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
11. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard, M29-A. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazard and /Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. NCCLS, Wayne Pa.
13. DOOLEY, C.P. et al. 1989. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. New England J. Med. 321:1562-1566.
14. GRAHAM, D.Y. et al. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology. 100:1495-1501.
15. LOFFELD, R.J., et al. 1991. The prevalence of anti-*Helicobacter (Campylobacter) pylori* antibodies in patients and healthy blood donors. J. Med. Microbiol. 32:105-109.

SYMBOLE

Symbol	Bedeutung
REF oder REF	Bestellnummer
IVD	In Vitro Diagnostikum
	Hersteller
	Zulässiger Temperaturbereich
	Verwendbar bis
LOT	Chargenbezeichnung
i	Gebrauchsanweisung beachten
Σ	Ausreichend für "n" Ansätze

BIOMÉRIEUX
bioMérieux® sa
au capital de 11 879 045 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

CE
Gedruckt in Frankreich

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY)

IVD

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY) es una determinación cualitativa automatizada en los sistemas VIDAS, que permite la detección de los anticuerpos IgG anti-*Helicobacter pylori* en suero o plasma humano (EDTA), por técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay). VIDAS® HPY se utiliza para el diagnóstico de las infecciones por *H. pylori* en una población adulta asintomática.

INTRODUCCION Y OBJETIVO DE LA PRUEBA

Helicobacter pylori (llamado *a veces Campylobacter pylori*) es un bacilo microaerófilo con forma espiral que produce una inflamación de la mucosa estomacal (gastritis) y úlceras en las personas infectadas. La infección puede igualmente ser el origen de cánceres de estómago (1, 2, 3). Las personas con síntomas de infección por *H. pylori* se consideran como infectadas, mientras que las personas asintomáticas se consideran como colonizadas. La mayoría de las personas colonizadas no desarrollan jamás úlceras y permanecen asintomáticas a pesar de la colonización por *H. pylori* después de años, e incluso decenas de años. (4, 5).

Existen métodos invasivos y no invasivos para detectar la presencia de *H. pylori*. La biopsia por endoscopia es utilizada tradicionalmente para obtener muestras de tejidos gástricos o duodenales para tinción, cultivo y/o detección directa de la ureasa.

La biopsia puede originar resultados falsos negativos en individuos infectados debido al reparto no uniforme de *H. pylori* en el tejido gástrico o duodenal o cuando los tejidos son portadores de *H. pylori* no viables o no productores de ureasa (6). Los métodos invasivos tales como la endoscopia son incómodos, presentan riesgos para el paciente y son costosos de realizar.

Los métodos no invasivos comprenden las pruebas respiratorias como la urea y los métodos serológicos. Las pruebas respiratorias como la urea permiten la detección de *H. pylori* por medio de su ureasa fuertemente activa: la urea marcada con carbono-14 o carbono-13 es ingerida por el paciente y, la presencia del dióxido de carbono exhalado se determina por escintilización o espectrofotometría de masa. Los inconvenientes de tal método son la exposición de los pacientes a radioisótopos y el costoso equipamiento necesario (6, 7, 8).

Los pacientes que sufren infecciones por *H. pylori* producen anticuerpos séricos. Estos anticuerpos se correlacionan con la presencia de infecciones por *H. pylori* confirmados por histología.

Los métodos serológicos (tales como las pruebas inmunoenzimáticas) son no invasivos, poco costosos, rápidos y fáciles de realizar. Su principal ventaja, respecto a los métodos invasivos, es que no dependen de la precisión de la muestra (7, 9).

PRINCIPIO

El principio de determinación asocia el método inmunoenzimático tipo sandwich en 2 etapas con una detección final por fluorescencia (ELFA). Todas las etapas de la reacción así como la temperatura de la determinación están controladas automáticamente por el sistema. El cono de un solo uso sirve a la vez de fase sólida y de sistema de pipeteo. El resto de los reactivos de la reacción inmunológica están listos al empleo y se distribuyen previamente en el cartucho.

Después de una etapa preliminar de lavado, y de dilución de la muestra, ésta sufre unos ciclos de aspiración y expulsión durante un tiempo predeterminado. La primera etapa permite a los anticuerpos anti-*H. pylori* presentes en la muestra unirse específicamente a los antígenos *H. pylori* ya fijados en las paredes del cono.

Las etapas de lavado eliminan los componentes no fijados.

Los anticuerpos anti-IgG humanos conjugados con la fosfatasa alcalina son entonces aspirados/expulsados del cono y se unen a las IgG humanas fijadas sobre las paredes del cono.

Una etapa final de lavado permite eliminar el conjugado de anticuerpos anti-humanos no fijado.

Durante la etapa final de revelado, el substrato (4-Metil-umbeliferil fosfato) es aspirado y después es expulsado del cono; el enzima del conjugado cataliza la reacción de hidrólisis de este substrato en un producto (4-Metil-umbeliferona) cuya fluorescencia emitida es leída a 450 nm. El valor de la señal de fluorescencia es medida por el sistema óptico del sistema VIDAS. Al finalizar la prueba, los resultados son calculados automáticamente por el sistema. Se obtiene un valor del test y se imprime un resultado para cada muestra.

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS DEL EQUIPO (30 DETERMINACIONES) :

30 cartuchos HPY	STR	Listos al empleo.
30 conos HPY (1 x 30)	SPR	Listos al empleo. Conos sensibilizados con el antígeno *H. pylori* purificado.
Estándar HPY (1 x 2 ml)	S1	Listo al empleo. Suero humano* con anticuerpos anti-*H. pylori* + azida sódica 1 g/l. El intervalo de confianza en "Valor de Fluorescencia Relativa" (RFV) se indica en la tarjeta MLE con la indicación : "Standard (S1) RFV Range".
Control positivo HPY (1 x 1,5 ml)	C1	Listo al empleo. Suero humano* con anticuerpos anti-*H. pylori* + azida sódica 1 g/l. El intervalo de confianza en Valor del test (VT) está indicado en la tarjeta MLE con la indicación : "Control C1 Test Value Range".
Control negativo HPY (1 x 1,5 ml)	C2	Listo al empleo. Suero humano* sin anticuerpos anti-*H. pylori* + azida sódica 1 g/l. El intervalo de confianza en Valor del Test (VT) está indicado en la tarjeta MLE con la indicación : "Control C2 Test Value Range".
1 Tarjeta MLE		Ficha de especificaciones con los datos de fabricación necesarios para la calibración de la determinación.
1 Ficha técnica		

* Se ha verificado la ausencia de antígeno HBs, de anticuerpos anti-VIH1, VIH2 y anticuerpos anti-VHC. Sin embargo, ninguna prueba puede aportar una garantía absoluta, este producto debe ser manipulado con las precauciones de los productos potencialmente infecciosos.

DESCRIPCION

Cada determinación VIDAS HPY necesita un cartucho y un cono HPY.

El cono :

El cono sensibilizado durante la fabricación con antígenos purificados de *H. pylori.* Cada cono está identificado por el código HPY. Utilizar únicamente el número de conos necesarios y dejar los conos no utilizados en su bolsa. **Cerrar correctamente la bolsa después de su apertura.**

El cartucho:

El cartucho está compuesto de 10 pocillos recubiertos de una hoja de aluminio sellada y etiquetada. La etiqueta contiene un código de barras donde se incluye el código de la prueba, el número de lote y la fecha de caducidad del equipo. El primer pocillo tiene una parte precortada para facilitar la introducción de la muestra. El último pocillo es una cubeta que permite la lectura por fluorescencia. Los diferentes reactivos necesarios para el análisis están contenidos en los pocillos intermedios.

Descripción del cartucho

Pocillos	Reactivos
1	Pocillo de muestra.
2	Diluyente de la muestra: Tampón TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos + azida sódica 1 g/l (600 µl).
3	Tampón de prelavado: Tampón TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos + azida sódica 1 g/l (400 µl).
4 - 5 - 7	Tampón de lavado: Tampón TRIS (0,05 mol/l) + detergente + azida sódica 1 g/l (600 µl).
6	Conjugado: Mezcla titulada de anticuerpos monoclonales de ratón anti-IgG humanas marcados con la fosfatasa alcalina + azida sódica 1 g/l (400 µl).
8	Tampón de lavado: Tampón DEA (360 mmol/l) + azida sódica 1 g/l (600 µl).
9	Diluyente de muestra: Tampón TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos + azida sódica 1 g/l (300 µl).
10	Cubeta de lectura con substrato: 4-Metil umbeliferil fosfato (0,6 mmol/l) + dietanolamina DEA* (0,62 mol/l es decir 6,6 %) pH 9,2 + azida sódica 1 g/l (300 µl).

* **Reactivo IRRITANTE :**
- **R 36**: irritante para los ojos.
- **S 26**: en caso de contacto con los ojos, lavar con agua inmediatamente y abundantemente y, consultar un especialista.

Para más información, consultar la ficha de seguridad disponible bajo pedido.

MATERIAL NECESARIO NO SUMINISTRADO

- Pipeta de punta desechable de 100 µl.
- Guantes sin talco de un solo uso.

PRECAUCIONES DE UTILIZACION

- **Para diagnóstico *in vitro* únicamente**
- **Para uso profesional únicamente**
- **Este equipo contiene componentes de origen humano. Ninguno de los métodos actualmente conocido puede garantizar de forma absoluta que estos productos no contienen ningún agente patógeno transmisible. Se recomienda manipularles con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos (consultar el Manual de bioseguridad en el laboratorio – OMS - Ginebra - última edición).**
- Este equipo contiene componentes de origen animal. El certificado de origen y/o el estado sanitario de los animales no puede garantizar de forma absoluta que estos productos no contienen ningún agente patógeno transmisible, se recomienda manipularlos con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos (no ingerir; no inhalar).
- Considerar todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas y respetar las precauciones de uso. Eliminar los componentes utilizados y otros materiales contaminados según los procedimientos en vigor para los productos de origen humano potencialmente infecciosos (10-12).
- No utilizar los conos cuya bolsa esté perforada.
- No utilizar cartuchos visiblemente alterados (hoja de aluminio o plástico dañados).
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- No mezclar los reactivos (o consumibles) de lotes diferentes.
- No utilizar **guantes con talco**, este puede producir resultados falsos para ciertas pruebas inmunoenzimáticas.
- Los reactivos del equipo contienen un conservante (azida sódica) susceptible de reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas metálicas explosivas. Se recomienda enjuagar abundantemente todo desecho para evitar su acumulación.
- El substrato (pocillo 10 del cartucho) contiene un agente irritante (dietanolamina 6,6 %). Tener en cuenta la frase de riesgo "R" y los consejos de prudencia "S" citados anteriormente.

- Las proyecciones deben ser tratadas con un líquido detergente o una solución con lejía que contenga al menos un 0,5 % de hipoclorito sódico. Consultar el Manual de Utilización para eliminar las proyecciones sobre o en el interior del sistema. No autoclavar los productos con lejía.
- Los elementos del módulo analítico VIDAS y mini VIDAS deben limpiarse y descontaminarse regularmente (consultar en el Manual de Utilización).

CONDICIONES DE CONSERVACION

- Conservar el equipo VIDAS HPY a 2-8°C.
- **No congelar los reactivos.**
- **Dejar a 2-8°C los reactivos no utilizados.**
- Cuando se abra un nuevo equipo, verificar la integridad y el correcto cierre de (de las) bolsa(s). En caso contrario, no utilizar los conos.
- **Después de cada utilización, cerrar la bolsa con su deshidratante para mantener la estabilidad de los conos y mantener el equipo completo a 2-8°C.**
- Todos los componentes son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase, si se conservan en las condiciones recomendadas.

MUESTRAS

Naturaleza y toma de muestra:

La determinación VIDAS HPY debe realizarse en sueros o plasmas (EDTA) no hemolizados y no contaminados.
No calentar los sueros. Las muestras con partículas en suspensión deben ser clarificadas mediante centrifugación o filtración antes de analizar.

Aunque los datos indican que no existen interferencias con la hemoglobina (500 mg/dl), los lípidos (2,0 mg/ml) o la bilirrubina (30 mg/dl), no se recomienda la utilización de muestras hemolizadas, ictéricas o lipémicas. Efectuar si es posible una nueva extracción.

Estabilidad de las muestras

Toda muestra no analizada el día de su extracción debe ser conservada a 2-8°C durante un máximo de 5 días. Si esto no es posible, congelar la muestra a -25 ± 6°C hasta 2 meses. No exceder 2 ciclos de congelación/descongelación. No analizar muestras que presenten una contaminación microbiana visible.

TECNICA

Para instrucciones completas, consultar el Manual de Utilización de VIDAS o mini VIDAS.

Introducción de los datos de la tarjeta MLE

Cuando se abra un nuevo lote, las especificaciones (o datos de calibración) deben ser introducidos en el sistema (VIDAS o mini VIDAS) con la ayuda de la tarjeta MLE (ficha de especificaciones) incluida en cada equipo. Si esta operación no se efectúa **antes de comenzar las pruebas**, el sistema no podrá editar los resultados. Estas especificaciones solo se introducen una vez para cada lote.
Es posible introducir las especificaciones manualmente o de forma automática gracias a la tarjeta MLE.

Calibración

La calibración, con la ayuda del calibrador suministrado en el equipo, debe efectuarse cuando llegue un nuevo lote después de introducir las especificaciones del lote, y después cada 14 días. Esta operación permite ajustar la calibración a cada sistema y a la eventual evolución del reactivo con el tiempo.
El calibrador, identificado por S1, se analizará **en doble** (ver Manual de Utilización). El valor del calibrador debe estar comprendido en los límites de RFV ("Valor de Fluorescencia Relativa") fijados. Si no es el caso: repetir la calibración.

Realización de la prueba

1. **Sacar únicamente los reactivos necesarios, dejarlos 30 minutos a temperatura ambiente antes de utilizar.**
2. Utilizar un cartucho "HPY" y un cono "HPY" para cada muestra, control o estándar a analizar. **Verificar que la bolsa de conos ha sido correctamente cerrada después de cada utilización.**
3. Teclear o seleccionar "HPY" en el sistema para introducir el código de la prueba. El estándar identificado obligatoriamente por "S1", debe ser utilizado **en doble**. Si el control positivo debe ser analizado, se identificará por "C1". Si el control negativo debe analizarse, se identificará por "C2".
4. Homogeneizar con la ayuda de un agitador de tipo vórtex el calibrador, los controles y las muestras.
5. Distribuir **100 µl** de estándar, muestra o control en el pocillo de muestra.
   (**NOTA**: verificar la ausencia de burbujas en los pocillos de muestra después de pipetear. Llegado el caso, golpear los cartuchos para eliminar las burbujas).
6. Colocar en el sistema los conos y los cartuchos. Verificar la correcta concordancia de los códigos (colores y letras) entre el cono y el cartucho.
7. Iniciar el análisis (ver Manual de Utilización). Todas las etapas se generan automáticamente por el sistema. Los resultados se obtienen en 35 minutos aproximadamente.
8. Al finalizar el análisis, retirar los conos y los cartuchos del sistema.
9. Eliminar los conos y cartuchos utilizados en un recipiente adecuado.

RESULTADOS

Una vez finalizada la determinación, los resultados se analizan automáticamente por el sistema informático. El sistema efectúa dos lecturas de fluorescencia en la cubeta de lectura para cada prueba. La primera lectura tiene en cuenta el ruido de fondo debido a la cubeta del substrato antes de contactar con el cono. La segunda lectura se efectúa después de la incubación del substrato con el enzima presente en el cono. El cálculo del RFV (Valor de Fluorescencia Relativo) es el resultado de la diferencia de las dos lecturas. Aparece en la hoja de resultados.
El valor del test se obtiene dividiendo el RFV de la muestra por el del estándar.

TV= Valor del test = RFV paciente / RFV estándar

El valor del test se compara con un umbral memorizado por el sistema y el resultado final es interpretado.

La interpretación de los resultados en función del valor es la siguiente:
Los resultados con valores del test inferiores al umbral indican que el paciente no presenta anticuerpos anti-*H. pylori* detectables.

Umbral e interpretación de los resultados

Valor del test	Interpretación
TV < 0,75	Negativo
0,75 ≤ TV < 1,00	Dudoso
TV ≥ 1,00	Positivo

Se imprimen:
- el tipo de prueba,
- la identificación del paciente,
- la fecha y la hora,
- el número de lote y la fecha de caducidad del equipo,
- para cada muestra, el RFV, el valor del test y la interpretación.

La imprecisión inherente a todo método hace incierta la interpretación de los valores del tests próximos a los umbrales; por esto se ha establecido una zona dudosa dada esta imprecisión.
Las muestras con valores del test superiores o iguales al umbral alto se interpretan como positivas.
Para valores umbral comprendidos entre 0,75 y 1,00, repetir la prueba con la muestra inicial si es posible. Si esto no es posible, proceder a realizar una nueva extracción y repetir la determinación.
En caso de obtener de nuevo resultados dudosos, debe considerarse la utilización de información clínica y otras pruebas de laboratorio.
Los resultados no son válidos si la lectura del ruido de fondo (BDF) está por encima de un umbral predeterminado (indicando una contaminación débil del substrato). En este caso, repetir la determinación con la muestra inicial.
Los resultados son igualmente no válidos si el estándar no ha sido validado para el número de lote del cartucho de la determinación del paciente. En este caso, procesar un estándar en doble con cartuchos HPY del mismo número de lote que el del paciente no válido. El resultado de la prueba del paciente podrá ser entonces recalculado con la ayuda del estándar memorizado.
(Ver Manual de Utilización para más detalles).

CONTROL DE CALIDAD

Se incluye un control positivo y un control negativo en cada equipo VIDAS HPY.
Estos controles deben ser utilizados cuando se abra un nuevo equipo con el fin de verificar la ausencia de alteración de los reactivos. Cada calibración debe ser igualmente verificada con la ayuda de estos controles. Para que el sistema pueda verificar el valor de los controles, deben ser identificados por C1 y C2. El control positivo y el control negativo deben ser analizados según las correctas prácticas de laboratorio.
Si el valor de los controles no se ajusta a los valores esperados, los resultados no pueden ser válidos.
Los valores esperados del estándar son igualmente memorizados por medio de la tarjeta MLE. Si los valores del estándar se desvían de los valores esperados, se señalarán en la hoja de los resultados. El sistema no calculará el valor del test (VT) ni el RFV para los pacientes y los controles.

Advertencia

Es responsabilidad del usuario garantizar que el control de calidad se realiza según la legislación local en vigor.

LIMITES DE LA PRUEBA

1. La determinación VIDAS HPY debe utilizarse únicamente en pacientes con signos clínicos de enfermedades gastroduodenales. No está destinado a ser utilizado con pacientes asintomáticos.
2. Como para toda prueba de diagnóstico, los resultados obtenidos con VIDAS HPY deben ser interpretados paralelamente a los resultados de otras pruebas de laboratorio, y a los datos clínicos disponibles.
3. Un resultado positivo HPY no aporta ninguna distinción entre una infección y una colonización por *H. pylori*.
4. Un resultado positivo HPY indica la presencia de anticuerpos IgG *H. pylori,* pero no indica forzosamente que exista una enfermedad gastroduodenal.
5. Un resultado negativo HPY indica o la ausencia de IgG *H. pylori*, o su presencia a un nivel no detectable por la determinación HPY.
6. Las prestaciones no han sido establecidas en el seguimiento de tratamiento de *H. pylori* (terapia antimicrobiana).
7. Las prestaciones de la determinación no han sido establecidas para pacientes menores de 18 años.
8. Puede encontrarse una interferencia con ciertos sueros con anticuerpos dirigidos frente a los componentes del reactivo, es por esto que los resultados de esta prueba deben ser interpretados teniendo en cuenta el contexto clínico.

VALORES ESPERADOS

Las infecciones por *H. pylori* han sido observadas en el mundo entero, pero existe sin embargo una gran disparidad geográfica de las prevalencias. Es siempre más elevada en los países en desarrollo (70 al 90%) que en los países industrializados (20 al 30%). Las prevalencias elevadas están asociadas a bajos niveles socio-económicos. En la población caucasiana (Estados Unidos y otros países industrializados), las infecciones por *H. pylori* son muy poco frecuentes en niños. La prevalencia aumenta en seguida de 0,5 al 2% por año de vida. Afecta al 50 % de sujetos con 60 años o más. La prevalencia parece ser superior en la población negra e hispana (13, 14). En los pacientes con úlceras duodenales, la frecuencia de las infecciones por *H. pylori* es de aproximadamente el 80% para todos los rangos de edad (15).
En una población de 200 donantes de sangre, el porcentaje de positivos con VIDAS HPY ha sido del 27,5% con un nivel de dudosos del 5,5%.
Los valores esperados para una población dada deben ser establecidos por cada laboratorio. El nivel de positividad puede variar según diferentes factores (países, edad, sexo de la población estudiada, estación, tipo de muestra, etc…).

PRESTACIONES TECNICAS

Un total de 247 sueros congelados y 100 sueros recientes han sido utilizados para evaluar la sensibilidad y especificidad de VIDAS HPY.

204 sueros congelados han sido caracterizados por cultivo: 99 muestras se consideraron como negativas y 105 positivas para *H. pylori.*

43 sueros han sido analizados por histología: 26 se consideraron como negativos y 17 como positivos.

Estos mismos 247 sueros congelados y 100 sueros recientes han sido igualmente analizados por un método EIA comercializado.

Tabla 1

204 sueros determinados por cultivo

Tabla 1

		Cultivo	
		+	**-**
VIDAS HPY	**+**	103	9
	E	0	1
	-	2	89

1 resultado VIDAS dudoso (no incluido en los cálculos)

Sensibilidad clínica 98,10%
IC 95% 93,12 % - 99,77 %

Especificidad clínica 90,82%
IC 95% 83,28% - 95,71%
IC: Intervalo de confianza

Tabla 2

43 sueros determinados por histología

Tabla 2

		Histología	
		+	**-**
VIDAS	**+**	17	0
HPY	**-**	0	26

% de concordancia positivos	17/17	100 %
% de concordancia negativos	26/26	100 %
% de concordancia de resultados	43/43	100 %

Tabla 3

247 sueros analizados con un método EIA comercializado.

Tabla 3

		EIA	
		+	**-**
VIDAS HPY	**+**	118	11**
	E* **	1	1
	-	2*	114

2 resultados VIDAS dudosos (no incluidos en los cálculos)

% de concordancia positivos	118/120	98,3%
% de concordancia negativos	114/125	91,2%
% de concordancia de los resultados	232/245	94,7%

* 2 sueros positivos con el método EIA comercializado y negativos con VIDAS HPY han sido negativos por cultivo.

**7 sueros negativos con el método EIA comercializado y positivos con VIDAS HPY fueron negativos por cultivo. Un suero negativo con el método EIA comercializado y positivo con VIDAS HPY fue positivo por cultivo. 3 sueros negativos con el método EIA comercializado y positivos con VIDAS HPY fueron positivos por histología.

***Un suero positivo con el método EIA comercializado y dudoso con VIDAS HPY fue negativo por cultivo. Un suero negativo con el método EIA comercializado y dudoso con VIDAS HPY fue negativo por cultivo.

Tabla 4

100 sueros recientes analizados con otro método EIA

Tabla 4

		EIA	
		+	-
VIDAS HPY	**+**	30	6
	E	1	0
	-	1	62

1 resultado VIDAS dudoso (no incluido en los cálculos)

% de concordancia positivos	30/31	96,8%
% de concordancia negativos	62/68	91,2%
% de concordancia de resultados	92/99	92,9%

Los resultados discordantes no fueron analizados con la ayuda de otro método de detección de *H. pylori*.

REPRODUCTIBILIDAD

Se utilizó un panel de 6 pools de muestras (2 negativas, 2 positivas débiles y 2 positivas) para la reproductibilidad de VIDAS HPY. Este panel ha sido analizado en 3 centros. Cada pool ha sido analizado 10 veces en un instrumento durante 3 días. Los resultados combinados de precisión intra-serie y total se indican en la Tabla 5.

Se ha utilizado el valor del test (VT) VIDAS. El coeficiente de variación (%CV) no se ha presentado para los pools de muestras negativas, por tanto la desviación típica (ET) representa la medida de variabilidad. Los resultados se presentan según las normas del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Tabla 5 (Todos los Centros)

		Negativo		**Positivo débil**		**Positivo fuerte**	
N		90	90	90	90	90	90
Medias de VT		0,32	0,22	1,75	1,33	9,39	5,39
Precisión Intra-serie	**ET**	0,02	0,01	0,07	0,06	0,25	0,20
	%CV	5,8	6,3	3,9	4,7	2,7	3,8
Precisión Inter-días	**ET**	0,05	0,02	0,08	0,08	0,44	0,78
	%CV	16,1	11,0	4,5	6,0	4,6	14,4
Precisión total Inter-centros	**ET**	0,05	0,12	0,25	0,21	1,67	0,78
	%CV	NA	NA	14,2	15,5	17,8	14,4

NA=No aplicable

REACCIONES CRUZADAS

	VIDAS HPY
F.R. +	1/18
A.N.A.+	2/14
MNI +	0/19
Gripe +	0/11
HSV +	1/16
Toxoplasmosis IgG +	0/14
Sífilis +	0/10
CMV IgG +	0/12
Lupus eritematoso +	0/3

Se han analizado un total de 122 muestras negativas en anticuerpos anti- *H. pylori* (con un método EIA comercializado): 5 resultados VIDAS HPY dudosos fueron excluidos de la tabla (1 dudoso FR +, 2 dudosos ANA +, 1 dudoso gripe +, 1 dudoso toxoplasmosis IgG +).

ESPECIFICIDAD ANALITICA

Con el fin de determinar la especificidad de la prueba, los microorganismos fueron preincubados en un pool de sueros humanos anti-*H. pylori* positivos. Fueron analizados en triple.
Los microorganismos analizados se indican en la siguiente lista y han presentado los resultados conformes con la determinación VIDAS HPY: los sueros seropositivos se mantienen positivos después de absorpción con cada microorganismo, excepto la cepa de *H. pylori*.

Bacteroides fragilis
Borrelia burgdorferi
Campylobacter coli
Campylobacter fetus fetus
Campylobacter fetus venerealis
Campylobacter hyointestinalis
Campylobacter jejuni
Campylobacter lari
Campylobacter rectus
Candida albicans
Citrobacter freundii
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Helicobacter cinaedi
Helicobacter pylori
Klebsiella pneumoniae
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas fluorescens
Salmonella minnesota
Serratia liquefaciens
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Wolinella succinogenes
Yersinia enterocolitica

ELIMINACION DE RESIDUOS

Eliminar los reactivos utilizados o no utilizados así como los materiales de un solo uso contaminados siguiendo los procedimientos relativos a los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.
Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de sus desechos y efluentes según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación, según las reglamentaciones aplicables.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BUCK, G.E. 1990. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Clin. Microbiol. Rev. 3:1-12.
2. MARSHALL, B.J. and J.R. WARREN. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet I:1311-1314.
3. PETERSON, W.L. 1991. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. New England J. Med. 324(15):1043-1048.
4. BLASER, M.J. 1992. Hypothesis on the Pathogenesis and Natural History of *Helicobacter pylori*-Induced Inflammation. Gastroenterology. 102:720-727.
5. TAYLOR, D.N. and M.J. BLASER. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiol. Rev. 13:42-59.
6. MARSHALL. B.J. et al. 1988. Carbon-14 urea breath test for diagnosis of *Campylobacter pylori* associated gastritis. J. Nucl. Med. 29:11-16.
7. WILCOX, M.H. et al. 1996. Accuracy of serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection - a comparison of eight kits. J. Clin. Pathol. 49:373-376.
8. GRAHAM, D.Y. et al. 1987. *Campylobacter pylori* detected non-invasively by the C-13 urea breath test. Lancet 23:1174-1177.
9. TALLEY, N.J. et al. 1991. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. J. Clin. Microbiol. 29:1635-1639.
10. U.S. Department of Heath and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
11. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard, M29-A. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazard and /Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. NCCLS, Wayne Pa.
13. DOOLEY, C.P. et al. 1989. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. New England J. Med. 321:1562-1566.
14. GRAHAM, D.Y. et al. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology. 100:1495-1501.
15. LOFFELD, R.J., et al. 1991. The prevalence of anti-*Helicobacter (Campylobacter) pylori* antibodies in patients and healthy blood donors. J. Med. Microbiol. 32:105-109.

TABLA DE SIMBOLOS

Símbolo	Significado
REF o REF	Número de catálogo
IVD	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Limite de temperatura
	Fecha de caducidad
LOT	Codigo de lote
	Consulte las instrucciones de uso
Σ	Contenido suficiente para <n> ensayos

BIOMÉRIEUX

bioMérieux® sa
au capital de 11 879 045 €
673 620 399 RCS LYON

69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

CE
Impreso en Francia

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY)

IVD

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY) è un test qualitativo, automatizzato sugli strumenti VIDAS, che permette la ricerca degli anticorpi IgG anti-*Helicobacter pylori* nel siero o nel plasma umano (EDTA) con la tecnica ELFA (Enzyme-Lynked Fluorescent Assay). Il VIDAS® HPY è utilizzato come ausilio alla diagnosi delle infezioni da *H. pylori* in una popolazione adulta sintomatica.

INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

Helicobacter pylori (denominato nel passato *Campylobacter pylori*) è un bacillo microaerofilo di forma spiralata che causa, nelle persone infettate, un'infiammazione della mucosa dello stomaco (gastrite) e delle ulcere. L'infezione può provocare inoltre tumori gastrici (1, 2, 3). Le persone che presentano una sintomatologia a seguito dell'infezione da *H. pylori* sono considerate infettate, mentre i soggetti asintomatici sono considerati colonizzati. La maggior parte dei soggetti colonizzati non sviluppa mai ulcere e rimarrà asintomatica nonostante che la colonizzazione da *H. pylori* possa durare per anni o, addirittura, per decine di anni (4, 5).
Per rilevare la presenza di *H. pylori* esistono metodi invasivi e non invasivi. Tradizionalmente, si utilizza il prelievo bioptico in corso di gastroscopia per ottenere dei campioni di tessuto gastrico o duodenale su cui eseguire la colorazione, la coltura e/o la ricerca diretta dell'ureasi.
La biopsia può dare risultati falsamente negativi in individui infettati a causa della ripartizione non uniforme dell'*H. pylori* nel tessuto gastrico o duodenale o, ancora, quando nei tessuti sono presenti *H. pylori* non vitali o non produttori di ureasi (6). I metodi invasivi, come l'endoscopia, sono fastidiosi e presentano dei rischi per il paziente e sono costosi.

I metodi non invasivi comprendono i test respiratori all'urea ed i metodi sierologici. I test respiratori all'urea permettono di ricercare l'*H. pylori* grazie alla sua elevata attività ureasica: al paziente viene fatta ingerire urea marcata con carbonio-14 o con carbonio-13 ed il biossido di carbonio presente nelle esalazioni viene analizzato con la scintigrafia o con la spettrofotometria di massa. Gli inconvenienti di questo metodo sono l'esposizione dei pazienti a radioisotopi ed il costo elevato della strumentazione necessaria (6, 7, 8).
I pazienti colpiti da un'infezione da *H. pylori* producono degli anticorpi sierici. Questi anticorpi sono correlati alla presenza di infezioni da *H. pylori* confermate con l'istologia.
I metodi sierologici (come i test immunoenzimatici) non sono invasivi, sono poco costosi, rapidi e di facile esecuzione. Il loro principale vantaggio, in rapporto ai metodi invasivi, è che non dipendono dalla accuratezza del prelievo (7, 9).

PRINCIPIO

Il principio del dosaggio associa il metodo immunoenzimatico sandwich in 2 fasi ad una rivelazione finale in fluorescenza (ELFA). Tutte le fasi della reazione, come pure la temperatura del test, vengono gestite automaticamente dallo strumento. I coni, monouso, servono sia da fase solida che da sistema di pipettamento. Gli altri reattivi della reazione immunologica sono pronti per l'uso e pre-distribuiti nella cartuccia.
Il campione, dopo una fase preliminare di lavaggio, viene diluito e quindi sottoposto a cicli di aspirazione/rilascio da parte del cono per un tempo determinato. La prima fase permette agli anticorpi anti-*H. pylori* presenti nel campione di legarsi in maniera specifica agli antigeni *H. pylori* già fissati sulle pareti del cono.
I componenti non legati vengono eliminati tramite fasi di lavaggio.
Anticorpi anti-IgG umane coniugati con fosfatasi alcalina vengono quindi aspirati/rilasciati dal cono e si vanno a legare alle IgG umane fissate sulle pareti del cono.
Una fase finale di lavaggio permette di eliminare gli anticorpi anti-umani coniugati che non si sono fissati.
Nella fase finale di rivelazione il substrato (4-Metil-umbelliferil fosfato) viene aspirato/rilasciato dal cono: l'enzima del coniugato ne catalizza l'idrolisi in un prodotto fluorescente (4-Metil-umbelliferone) la cui fluorescenza emessa viene misurata a 450 nm. Il valore del segnale di fluorescenza viene misurato dal sistema ottico dello strumento VIDAS.
Al termine del test i risultati sono analizzati automaticamente dallo strumento che, per ogni campione, calcola e stampa un valore del test.

COMPOSIZIONE DELLA CONFEZIONE (30 DETERMINAZIONI) :

30 cartucce HPY	STR	Pronte per l'uso.
30 coni HPY (1 x 30)	SPR	Pronti per l'uso. Coni sensibilizzati con antigene *H. pylori* purificato.
Standard HPY (1 x 2 ml)	S1	Pronto per l'uso. Siero umano* contenente anticorpi anti-*H. pylori* + 1 g/l di sodio azide. L'ambito dei valori in "Relative Fluorescence Value" (RFV) è indicato sulla card MLE con la menzione : "Standard (S1) RFV Range".
Controllo positivo HPY (1 x 1,5 ml)	C1	Pronto per l'uso. Siero umano* contenente anticorpi anti-*H. pylori* + 1 g/l di sodio azide. L'ambito dei valori in Valore del Test (TV) è indicato sulla card MLE con la menzione : "Control C1 Test Value Range".
Controllo negativo HPY (1 x 1,5 ml)	C2	Pronto per l'uso. Siero umano* non contenente anticorpi anti-*H. pylori* + 1 g/l di sodio azide. L'ambito dei valori in Valore del Test (TV) è indicato sulla card MLE con la menzione : "Control C2 Test Value Range".
1 Scheda MLE		Scheda delle specifiche tecniche contenente i dati forniti dalla casa produttrice per la calibrazione del test.
1 Scheda tecnica		

* È stata verificata l'assenza di antigene HBs, di anticorpi anti-HIV1, HIV2 e di anticorpi anti-HCV. Tuttavia, poiché nessun test può darne garanzia assoluta, questo prodotto deve essere manipolato con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi.

DESCRIZIONE

Ogni test VIDAS HPY richiede un cono ed una cartuccia HPY.

Il cono :

Durante la produzione il cono viene sensibilizzato con antigeni purificati di *H. pylori.* Ogni cono è contrassegnato dal codice HPY. Prelevare dal sacchetto soltanto il numero di coni necessari. **Richiudere accuratamente il sacchetto dopo l'apertura.**

La cartuccia :

La cartuccia è composta da 10 pozzetti ricoperti da un foglio di alluminio sigillato ed etichettato. Sopra vi è stampato un codice a barre che corrisponde al tipo di test da realizzare, al numero di lotto utilizzato ed alla data di scadenza della confezione. L'etichetta, in corrispondenza del primo pozzetto, è ritagliata per facilitare l'introduzione del campione. L'ultimo pozzetto è una cuvetta che consente la lettura in fluorimetria. I pozzetti intermedi contengono i diversi reattivi necessari all'analisi.

Descrizione della cartuccia

Pozzetto	Reattivi
1	Pozzetto del campione.
2	Diluente del campione : Tampone TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + stabilizzanti proteici + 1 g/l di sodio azide (600 µl).
3	Tampone di prelavaggio : Tampone TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + stabilizzanti proteici + 1 g/l di sodio azide (400 µl).
4 - 5 - 7	Tampone di lavaggio : Tampone TRIS (0,05 mol/l) + detergente + 1 g/l di sodio azide (600 µl).
6	Coniugato : Miscela titolata di anticorpi monoclonali di topo anti-IgG umane marcati con fosfatasi alcalina + 1 g/l di sodio azide (400 µl).
8	Tampone di lavaggio: Tampone DEA (360 mmol/l) + 1 g/l di sodio azide (600 µl).
9	Diluente del campione: Tampone TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + stabilizzanti proteici + 1 g/l di sodio azide (300 µl).
10	Cuvetta di lettura contenente il substrato : 4 Metil-umbelliferil fosfato (0,6 mmol/l)+ dietanolamina DEA* (0,62 mol/l, ossia il 6,6 %) pH 9,2 + 1 g/l di sodio azide (300 µl).

* **Reattivo IRRITANTE :**
- **R 36:** Irritante per gli occhi.
- **S 26:** In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico.

Per informazioni più complete consultare la Scheda di Sicurezza disponibile su richiesta.

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

- Pipetta, con puntali monouso, per la distribuzione di 100 µl.
- Guanti monouso senza talco.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- **Unicamente per diagnostica *in vitro.***
- **Esclusivamente per uso professionale**.
- **Questa confezione contiene componenti di origine umana. Poiché nessuno dei metodi di analisi attualmente conosciuti può garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile, si raccomanda di manipolarli con le precauzioni d'uso riservate ai prodotti potenzialmente infettivi (consultare Laboratory biosafety manual - WHO – Geneva - ultima edizione).**
- Questa confezione contiene dei componenti di origine animale. Poiché i controlli sull'origine e/o sullo stato sanitario degli animali non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile, si raccomanda di manipolarli con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare).
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi ed osservare le precauzioni d'uso. Provvedere allo smaltimento di tutti i componenti e dell'altro materiale contaminato con le procedure previste per i prodotti di origine umana potenzialmente infettivi (10-12).
- Non utilizzare i coni il cui sacchetto sia forato.
- Non utilizzare le cartucce visibilmente alterate (foglio di alluminio o plastica danneggiati).
- Non utilizzare i reattivi dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione.
- Non mescolare i reattivi od i consumabili di lotti differenti.
- I guanti **non devono essere talcati** poiché il talco, in alcuni test immunoenzimatici, può causare falsi risultati.
- I reattivi della confezione contengono un conservante (sodio azide) suscettibile di reagire con le tubature dei lavelli in piombo o in rame formando azidi metalliche esplosive. Si raccomanda di sciacquare con acqua dopo ogni operazione di scarico.
- Il substrato (pozzetto 10 della cartuccia) contiene un agente irritante (dietanolamina al 6,6 %). Prestare attenzione alle frasi di rischio "R" ed ai consigli di prudenza "S" sopra riportati.

- In caso di versamento di liquidi si deve trattare con detergenti o con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5 %. Per eliminare liquidi versati all'interno o sull'apparecchio, consultare il Manuale d'Uso. Non autoclavare i prodotti trattati con ipoclorito di sodio.
- Gli elementi del modulo analitico VIDAS e mini VIDAS devono essere regolarmente puliti e decontaminati (consultare il Manuale d'Uso).

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

- Conservare la confezione VIDAS HPY a 2-8°C.
- **Non congelare i reattivi.**
- **Lasciare a 2-8°C i reattivi non utilizzati.**
- All'apertura della confezione, verificare l'integrità e la corretta chiusura del(dei) sacchetto(i) dei coni. In caso contrario, non utilizzare i coni.
- **Per conservare la stabilità dei coni, richiudere accuratamente, dopo ogni utilizzazione, il sacchetto che li contiene con il suo disidratante e rimettere tutta la confezione a 2-8°C.**
- Tutti i componenti del kit, se correttamente conservati alle condizioni prescritte, sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione.

CAMPIONI

Natura e prelievo dei campioni :

Il test VIDAS HPY deve essere realizzato su sieri o plasmi (EDTA) non emolizzati e non contaminati.
Non riscaldare i sieri. I campioni che contengono delle particelle in sospensione devono essere chiarificati, prima di essere analizzati, centrifugandoli o filtrandoli.

Sebbene i dati mostrino che non si hanno interferenze con l'emoglobina (500 mg/dl), con i lipidi (2,0 mg/ml) o con la bilirubina (30 mg/dl), non è raccomandato l'uso di campioni emolizzati, itterici o lipemici. In questi casi, se possibile, eseguire un nuovo prelievo.

Stabilità dei campioni

Tutti i campioni che non vengono analizzati il giorno del prelievo devono essere conservati, per un massimo di 5 giorni, a 2-8°C. Per conservazioni più lunghe, al massimo di 2 mesi, è possibile congelare il campione a -25 ± 6°C. Non congelare / scongelare più di 2 volte. Non esaminare campioni che presentino una visibile contaminazione microbica.

PROCEDIMENTO

Per le istruzioni complete, far riferimento al Manuale d'Uso del VIDAS o del mini VIDAS.

Registrazione dei dati della scheda MLE

All'apertura di un nuovo lotto, prima di eseguire le analisi, devono essere registrate nello strumento (VIDAS o mini VIDAS), tramite la scheda MLE (scheda delle specifiche acclusa ad ogni confezione), le specifiche (dati forniti dal fabbricante) del lotto. Se questa operazione non è stata fatta **prima di avviare gli esami**, lo strumento non potrà fornire i risultati.
La registrazione delle specifiche va fatta una sola volta per lotto; può essere effettuata manualmente od in maniera automatica mediante la scheda MLE.

Calibrazione

La calibrazione, con lo standard fornito nella confezione, deve essere effettuata all'apertura di ogni nuovo lotto, dopo aver memorizzato le specifiche del lotto stesso, e deve essere ripetuta ogni 14 giorni. Questa operazione permette di aggiustare la calibrazione ad ogni strumento ed all'evoluzione eventuale dei reattivi nel tempo.
Lo standard, identificato con S1, deve essere analizzato **in doppio** (consultare il Manuale d'Uso). Il valore dello standard deve essere compreso nei limiti di RFV (Relative Fluorescence Value) fissati. In caso contrario occorrerà eseguire una nuova calibrazione.

Esecuzione del test

1. **Prelevare dal frigorifero soltanto i reattivi necessari e lasciarli a temperatura ambiente per almeno 30 minuti prima dell'uso.**
2. Utilizzare una cartuccia "HPY" ed un cono "HPY" per ogni campione, controllo o standard da analizzare. **Dopo l'uso, verificare di aver ben richiuso il sacchetto dei coni**.
3. Digitare o selezionare sullo strumento "HPY" per inserire il codice del test. Lo standard, identificato obbligatoriamente con "S1", dovrà essere inserito **in doppio**. Se si deve esaminare il controllo positivo, dovrà essere identificato con "C1". Se si deve esaminare il controllo negativo, dovrà essere identificato con "C2".
4. Omogeneizzare con un agitatore tipo vortex lo standard, i controlli ed i campioni.
5. Distribuire **100 µl** dello standard, del campione o del controllo nel pozzetto del campione delle cartucce. (**NB** : controllare che non vi siano bolle nel pozzetto dei campioni dopo il pipettamento. Se ve ne sono, picchiettare la cartuccia per eliminarle).
6. Inserire nello strumento i coni e le cartucce. Verificare attentamente la concordanza dei codici (colori e lettere) dei coni e delle cartucce..
7. Avviare l'analisi (vedere il Manuale d'Uso). Tutte le fasi del procedimento vengono gestite automaticamente dallo strumento. I risultati si ottengono in circa 35 minuti.
8. Alla fine dell'analisi estrarre dallo strumento i coni e le cartucce.
9. Eliminare i coni e le cartucce utilizzati in un idoneo recipiente.

RISULTATI

Una volta terminato il test, i risultati vengono analizzati automaticamente dal sistema informatico dello strumento. L'apparecchio esegue per ogni test due misure di fluorescenza nella cuvetta di lettura. La prima lettura prende in considerazione il rumore di fondo della cuvetta del substrato prima che il substrato venga a contatto con il cono. La seconda lettura è eseguita dopo l'incubazione del substrato con l'enzima presente nel cono. Il calcolo del valore relativo di fluorescenza (RFV) è il risultato della differenza delle due misure. Viene stampato sul foglio dei risultati.
Il valore del test è ottenuto dividendo l'RFV del campione con quello dello standard.

TV = Valore del test = RFV campione / RFV standard

Il valore del test viene quindi comparato a una soglia memorizzata dallo strumento ed il risultato finale viene interpretato.

L'interpretazione dei risultati, in base al valore del test, è la seguente :
I risultati con valori del test inferiori alla soglia indicano che il paziente non ha anticorpi anti-*H. pylori* rilevabili.

Valore soglia e interpretazione dei risultati

Valore del test	Interpretazione
TV < 0,75	Negativo
0,75 ≤ TV < 1,00	Dubbio
TV ≥ 1,00	Positivo

Vengono stampati :
- il tipo di test,
- l'identificativo del paziente,
- la data e l'ora,
- il numero di lotto e la data di scadenza della confezione,
- per ogni campione, l'RFV, il valore del test e l'interpretazione.

L'imprecisione inerente ad ogni metodo rende incerta l'interpretazione dei valori del test vicini alle soglie; per questo motivo è stata definita tra una zona dubbia, basata sulla conoscenza statistica di questa imprecisione.
I campioni con valori del test superiori od uguali alla soglia alta vengono interpretati come positivi.
Nel caso di valori compresi tra 0,75 ed 1,00 ripetere, se possibile, l'esame con il prelievo iniziale. Se ciò non è possibile eseguire un nuovo prelievo e ripetere il test.
Se si ottengono nuovamente risultati dubbi, si devono analizzare i dati clinici ed i risultati di altri esami di laboratorio disponibili.
I risultati non sono validi se la lettura del rumore di fondo (RDF) è superiore ad una soglia predeterminata (indice di una debole contaminazione del substrato). In questo caso ripetere l'esame con il prelievo iniziale.
I risultati sono ugualmente non validi se non vi è uno standard disponibile per il numero di lotto della cartuccia del test del paziente. In questo caso eseguire uno standard in doppio su cartucce HPY dello stesso numero lotto di quelle dell'esame del paziente non validato. Il risultato del test del paziente potrà essere ricalcolato con lo standard memorizzato.
(Per maggiori dettagli consultare il Manuale d'Uso).

CONTROLLO DI QUALITÀ

In ogni confezione VIDAS HPY sono inclusi un controllo positivo ed un controllo negativo.
Questi controlli devono essere utilizzati all'apertura di ogni nuova confezione per verificare che i reattivi non siano alterati. Anche ogni calibrazione deve essere verificata tramite questi controlli. Affinché lo strumento possa verificare il valore dei controlli, bisogna identificarli con C1 e con C2. Il controllo positivo ed il controllo negativo devono essere analizzati seguendo le norme di buona pratica di laboratorio.
Se il valore dei controlli è al di fuori dell'ambito indicato i risultati non possono essere ritenuti validi.

Anche i valori attesi per lo standard vengono memorizzati dallo strumento VIDAS tramite la scheda MLE. Se i valori dello standard si discostano dai valori attesi, ciò verrà segnalato sul foglio dei risultati. Il sistema non calcolerà il valore del test (TV) né l'RFV per i campioni ed i controlli.

Nota

E' responsabilità dell'utilizzatore assicurarsi che il controllo di qualità corrisponda a quanto previsto dalla legislazione locale vigente.

LIMITI DEL METODO

1. Il test VIDAS HPY deve essere utilizzato unicamente per pazienti che presentino sintomi clinici di malattie gastro-duodenali. Non è destinato ad essere utilizzato per pazienti asintomatici.
2. Come per tutti gli esami diagnostici, i risultati ottenuti con il VIDAS HPY devono essere interpretati in parallelo con i risultati di altri test di laboratorio e con i dati clinici disponibili.
3. Un risultato HPY positivo non permettere di differenziare una infezione da una colonizzazione da *H. pylor*i.
4. Un risultato HPY positivo indica la presenza di anticorpi IgG anti-*H. pylori,* ma non indica necessariamente che sia in atto una malattia gastro-duodenale.
5. Un risultato HPY negativo può significare sia che sono assenti le IgG anti-*H. pylor*i, sia che sono presenti ad un titolo non rilevabile con il test HPY.
6. Non sono state determinate le performance nel quadro del monitoraggio di una terapia anti-*H. pilori* (terapia antimicrobica).
7. Le performance del test non sono state determinate per pazienti con meno di 18 anni
8. Poiché è possibile avere interferenze con alcuni sieri che contengono anticorpi diretti contro qualche componente del reattivo, i risultati di questo test devono essere interpretati tenendo conto del contesto clinico.

VALORI ATTESI

Le infezioni da *H. pylori* sono state osservate in tutto il mondo, ma esiste una grande variabilità geografica per le prevalenze. La prevalenza è sempre più alta nei Paesi in via di sviluppo (70-90%) rispetto ai Paesi industrializzati (20-30%). Le prevalenze elevate sono associate a bassi livelli socio-economici. Nella popolazione caucasica (Stati Uniti ed altri Paesi industrializzati), le infezioni da *H. pylori* sono molto poco frequenti nei bambini. La prevalenza aumenta in seguito del 0,5-2% per ogni anno di vita per raggiungere, nei soggetti di 60 o più anni, il 50%. La prevalenza sembra essere superiore nella popolazione nera ed ispanica (13, 14). Nei pazienti che presentano ulcere duodenali, la frequenza delle infezioni da *H. pylori* è circa dell'80%, indipendentemente dall'età (15).

In una popolazione non selezionata (200 donatori di sangue), la percentuale di positivi con il VIDAS HPY è stata del 27,5% con il 5,5% di risultati dubbi.
I valori attesi su una data popolazione devono essere determinati da ogni Laboratorio. Le percentuali di positività possono variare in base a svariati fattori (Paese, età, sesso della popolazione studiata, stagione, tipo di prelievo, ecc…).

PERFORMANCE

Per valutare la sensibilità e la specificità del VIDAS HPY sono stati utilizzati 247 sieri congelati e 100 sieri freschi.

204 sieri congelati sono stati caratterizzati con la coltura : 99 campioni sono considerati negativi e 105 positivi per l'*H. pylor*i.

4 Gli altri 43 sieri congelati sono stati testati istologicamente : 26 sono considerati negativi e 17 positivi.

Gli stessi 247 sieri congelati e 100 sieri freschi sono stati inoltre testati con un metodo EIA del commercio.

Tabella 1

I 204 sieri caratterizzati con la coltura

Tabella 1

		Coltura	
		+	**-**
VIDAS	**+**	103	9
	E	0	1
HPY	**-**	2	89

1 risultato VIDAS dubbio (non incluso nei calcoli)

Sensibilità clinica 98,10%
IC 95% 93,12 % - 99,77 %

Specificità clinica 90,82%
IC 95% 83,28% - 95,71%
IC : Intervallo di confidenza

Tabella 2

I 43 sieri determinati istologicamente

Tabella 2

		Istologia	
		+	**-**
VIDAS	**+**	17	0
HPY	**-**	0	26

% di positivi concordanti	17/17	100 %
% di negativi concordanti	26/26	100 %
% di risultati concordanti	43/43	100 %

Tabella 3

I 247 sieri testati con un metodo EIA del commercio.

Tabella 3

		EIA	
		+	**-**
	+	118	11**
VIDAS	**E*** **	1	1
HPY	**-**	2*	114

2 risultati VIDAS dubbi (non inclusi nei calcoli)

% di positivi concordanti	118/120	98,3%
% di negativi concordanti	114/125	91,2%
% di risultati concordanti	232/245	94,7%

* 2 sieri positivi con il metodo EIA del commercio e negativi con il VIDAS HPY sono risultati negativi alla coltura.

** 7 sieri negativi con il metodo EIA del commercio e positivi con il VIDAS HPY sono risultati negativi alla coltura. Un siero negativo con il metodo EIA del commercio e positivo con il VIDAS HPY è risultato positivo alla coltura. 3 sieri negativi con il metodo EIA del commercio e positivi con il VIDAS HPY sono risultati positivi all'esame istologico.

*** Un siero positivo con il metodo EIA del commercio e dubbio con il VIDAS HPY è risultato negativo alla coltura. Un siero negativo con il metodo EIA del commercio e dubbio con il VIDAS HPY è risultato negativo alla coltura.

Tabella 4

I 100 sieri freschi testati con un altro metodo EIA

Tabella 4

		EIA	
		+	-
	+	30	6
VIDAS	**E**	1	0
HPY	**-**	1	62

1 risultato VIDAS dubbio (non incluso nei calcoli)

% di positivi concordanti	30/31	96,8%
% di negativi concordanti	62/68	91,2%
% di risultati concordanti	92/99	92,9%

I risultati discordanti non sono stati analizzati con un altro metodo per la ricerca dell'*H. pilori*.

RIPRODUCIBILITÀ

Un pannello costituito da 6 pool di campioni (2 negativi, 2 positivi deboli e 2 positivi) è stato utilizzato per definire la riproducibilità del VIDAS HPY. Questo pannello è stato analizzato in 3 Centri. Ogni pool è stato testato 10 volte su uno strumento nell'arco di 3 giorni. I risultati combinati della precisione intra-serie e totale sono riportati nella Tabella 5.

E' stato utilizzato il valore del test (TV) VIDAS. Poiché il coefficiente di variazione (CV %) per il pool dei campioni negativi non è presentato, è la Deviazione Standard (DS) che rappresenta la misura della variabilità. I risultati vengono presentati secondo le norme del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Tabella 5 (tutti i Centri)

		Negativo		Positivo debole		Positivo forte	
N		90	90	90	90	90	90
Media dei TV		0,32	0,22	1,75	1,33	9,39	5,39
Precisione	**DS**	0,02	0,01	0,07	0,06	0,25	0,20
Intra-serie	**CV %**	5,8	6,3	3,9	4,7	2,7	3,8
Precisione	**DS**	0,05	0,02	0,08	0,08	0,44	0,78
Inter-giorno	**CV %**	16,1	11,0	4,5	6,0	4,6	14,4
Precisione totale Inter-Centro	**DS**	0,05	0,12	0,25	0,21	1,67	0,78
	CV %	NA	NA	14,2	15,5	17,8	14,4

NA = Non applicabile

REAZIONI CROCIATE

	VIDAS HPY
F.R. +	1/18
A.N.A.+	2/14
MNI +	0/19
Influenza +	0/11
HSV +	1/16
Toxoplasmosi IgG +	0/14
Sifilide +	0/10
CMV IgG +	0/12
Lupus eritematoso +	0/3

In totale sono stati analizzati 122 campioni negativi per gli anticorpi anti-*H. pylori* con un metodo EIA del commercio : 5 risultati dubbi con il VIDAS HPY (1 FR +, 2 ANA +, 1 influenza +, 1 toxoplasmosi IgG +) sono stati esclusi dalla tabella.

SPECIFICITÀ ANALITICA

Per determinare la specificità del test, dei microrganismi sono stati pre-incubati in un pool di sieri umani positivi per gli anti-*H. pylori*. Sono stati testati in triplo.
I microrganismi saggiati sono elencati di seguito ed hanno fornito dei risultati conformi con il test VIDAS HPY : i sieri sieropositivi sono rimasti positivi dopo l'adsorbimento con ogni microrganismo, ad eccezione di quelli adsorbiti con il ceppo di *H. pylori*.

Bacteroides fragilis
Borrelia burgdorferi
Campylobacter coli
Campylobacter fetus fetus
Campylobacter fetus venerealis
Campylobacter hyointestinalis
Campylobacter jejuni
Campylobacter lari
Campylobacter rectus
Candida albicans
Citrobacter freundii
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Helicobacter cinaedi
Helicobacter pylori
Klebsiella pneumoniae
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas fluorescens
Salmonella minnesota
Serratia liquefaciens
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Wolinella succinogenes
Yersinia enterocolitica

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Smaltire i reattivi utilizzati o non utilizzati ed i materiali monouso contaminati seguendo le procedure relative ai prodotti infettivi o potenzialmente infettivi.
E' responsabilità di ogni laboratorio gestire i rifiuti e gli effluenti prodotti a seconda della loro natura e della loro pericolosità ed assicurarne (o farne assicurare) il trattamento e lo smaltimento conformemente alla legislazione vigente.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. BUCK, G.E. 1990. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Clin. Microbiol. Rev. 3:1-12.
2. MARSHALL, B.J. and J.R. WARREN. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet I:1311-1314.
3. PETERSON, W.L. 1991. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. New England J. Med. 324(15):1043-1048.
4. BLASER, M.J. 1992. Hypothesis on the Pathogenesis and Natural History of *Helicobacter pylori*-Induced Inflammation. Gastroenterology. 102:720-727.
5. TAYLOR, D.N. and M.J. BLASER. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiol. Rev. 13:42-59.
6. MARSHALL. B.J. et al. 1988. Carbon-14 urea breath test for diagnosis of *Campylobacter pylori* associated gastritis. J. Nucl. Med. 29:11-16.
7. WILCOX, M.H. et al. 1996. Accuracy of serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection - a comparison of eight kits. J. Clin. Pathol. 49:373-376.
8. GRAHAM, D.Y. et al. 1987. *Campylobacter pylori* detected non-invasively by the C-13 urea breath test. Lancet 23:1174-1177.
9. TALLEY, N.J. et al. 1991. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. J. Clin. Microbiol. 29:1635-1639.
10. U.S. Department of Heath and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
11. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard, M29-A. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazard and /Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. NCCLS, Wayne Pa.
13. DOOLEY, C.P. et al. 1989. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. New England J. Med. 321:1562-1566.
14. GRAHAM, D.Y. et al. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology. 100:1495-1501.
15. LOFFELD, R.J., et al. 1991. The prevalence of anti-*Helicobacter (Campylobacter) pylori* antibodies in patients and healthy blood donors. J. Med. Microbiol. 32:105-109.

TABELLA DEI SIMBOLI

Simbolo	Significato
REF o REF	Numero di catalogo
IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Fabbricante
	Limiti di temperatura
	Utilizzare entro
LOT	Codice del lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
Σ	Contenuto sufficiente per "n" saggi

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY)

IVD

O VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY) é um teste qualitativo automatizado nos aparelhos VIDAS, que permite a detecção dos anticorpos IgG anti-*Helicobacter pylori* no soro ou no plasma humano (EDTA), pela técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay). O VIDAS® HPY é utilizado para auxiliar o diagnóstico das infecções por *H. pylori* numa população adulta sintomática.

INTRODUÇÃO E OBJECTIVO DO TESTE

O *Helicobacter pylori* (designado anteriormente por *Campylobacter pylori*) é um bacilo microaerófilo em forma de espiral que provoca uma inflamação da mucosa do estômago (gastrite) e úlceras, nas pessoas infectadas. A infecção pode também dar origem a cancro do estômago (1, 2, 3). As pessoas que apresentem sintomas de infecção por *H. pylori* são consideradas infectadas, enquanto que as pessoas assintomáticas são consideradas colonizadas. A maior parte das pessoas colonizadas nunca desenvolvem úlceras e permanecem assinomáticas apesar de uma colonização por *H. pylori* desde há anos, ou mesmo, dezenas de anos. (4, 5).
Existem métodos invasivos e não invasivos para detectar a presença de *H. pylori*. A biopsia por endoscopia é tradicionalmente utilizada para obter amostras de tecidos gástricos ou duodenais para efectuar a coloração, cultura e/ou detecção directa da urease.

A biopsia pode levar a resultados falsamente negativos nas pessoas infectadas devido à distribuição não uniforme de *H. pylori* no tecido gástrico ou duodenal ou ainda, quando os tecidos contêm *H. pylori* não viáveis ou não produtores de urease (6). Os métodos invasivos como a endoscopia são desconfortáveis, apresentam riscos para o doente e são onerosos de realizar.

Os métodos não invasivos englobam testes respiratórios com ureia e métodos serológicos. Os testes respiratórios com ureia permitem a detecção de *H. pylori* através da sua urease fortemente activa: a ureia marcada com carbono-14 ou com carbono-13 é ingerida pelo doente e a presença de dióxido de carbono exalada é determinada por cintilação ou por espectrofotometria de massa. Os inconvenientes de um método deste género são a exposição dos doentes aos radio-isótopos e o equipamento dispendioso necessário (6, 7, 8).
Os doentes que sofrem de infecções por *H. pylori* produzem anticorpos séricos. Estes anticorpos são correlacionados com a presença de infecções por *H. pylori* confirmadas por histologia.
Os métodos serológicos (como os testes imunoenzimáticos) são não invasivos, pouco onerosos, rápidos e fáceis de efectuar. A principal vantagem em relação aos métodos invasivos é que não dependem da precisão da colheita/coleta (7, 9).

PRINCÍPIO

O princípio do doseamento associa o método imunoenzimático sandwich em 2 etapas com uma detecção final em fluorescência (ELFA). Todas as etapas da reacção bem como a temperatura do teste são controladas automaticamente pelo aparelho. O cone de utilização única serve tanto de fase sólida como de suporte de pipetagem. Os outros reagentes da reacção imunológica estão prontos a ser usados e pré-distribuídos na barrete.
Após uma etapa preliminar de lavagem e de diluição da amostra, esta é submetida a ciclos de aspiração e dispensação durante um determinado tempo. A primeira etapa permite que os anticorpos anti-*H. pylori* presentes na amostra se liguem especificamente aos antigénios *H. pylori* já fixados na parede do cone.
As etapas de lavagem eliminam os componentes não fixados.
Os anticorpos anti-IgG humanos conjugados com fosfatase alcalina são então aspirados e dispensados no cone e vão fixar-se às IgG humanas fixadas nas paredes do cone.
Uma etapa final de lavagem permite eliminar o conjugado de anticorpos anti-humano não fixado.
Durante a etapa final de revelação, o substrato (4-Metil-umbeliferil fosfato) é aspirado e dispensado pelo cone; a enzima do conjugado catalisa a reacção de hidrólise deste substrato num produto (4-Metil-umbeliferona) cuja fluorescência emitida é medida a 450 nm. O valor do sinal de fluorescência é medido pelo sistema óptico do aparelho VIDAS. Terminado o teste, os resultados são calculados automaticamente pelo aparelho. Para cada amostra é impresso um valor de teste e o respectivo resultado.

COMPOSIÇÃO DOS REAGENTES DA EMBALAGEM (30 TESTES):

30 barretes HPY	STR	Prontas a usar.
30 cones HPY (1 x 30)	SPR	Prontos a usar. Cones sensibilizados com antigénio *H. pylori* purificado.
Calibrador HPY (1 x 2 ml)	S1	Pronto a usar. Soro humano* que contém anticorpos anti-*H. pylori* + azida sódica 1 g/l. O intervalo de confiança em "Relative Fluorescence Value" (RFV) está indicado no cartão MLE com a menção : "Standard (S1) RFV Range".
Controlo positivo HPY (1 x 1,5 ml)	C1	Pronto a usar. Soro humano* que contém anticorpos anti-*H. pylori* + azida sódica 1 g/l. O intervalo de confiança em Valor de Teste (TV) está indicado no cartão MLE com a menção : "Control C1 Test Value Range".
Controlo negativo HPY (1 x 1,5 ml)	C2	Pronto a usar. Soro humano* que não contém anticorpos anti-*H. pylori* + azida sódica 1 g/l. O intervalo de confiança em Valor de Teste (TV) está indicado no cartão MLE com a menção : "Control C2 Test Value Range".
1 Cartão MLE		Ficha de especificações que contém os dados de fabrico necessários para a calibração do teste.
1 Folheto Informativo		

* Foi verificada a ausência de antigénio HBs, de anticorpos anti-VIH1, anti-VIH2 e de anticorpos anti-VHC. No entanto, não podendo nenhum teste dar uma garantia absoluta, deve este produto ser manipulado com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos.

DESCRIÇÃO
Cada teste VIDAS HPY necessita de uma barrete e de um cone HPY.

O cone:
O cone é sensibilizado na altura do fabrico com antigénios purificados de *H. pylori.* Cada cone é identificado com o código HPY. Utilizar unicamente o número de cones necessário e deixar os restantes na saqueta/sachet. **Fechar correctamente a saqueta/sachet após abertura.**

A barrete
A barrete é composta por 10 poços cobertos por uma folha de alumínio selada e etiquetada. A etiqueta tem um código de barras com informação relativa ao tipo de teste realizado, ao número de lote e à data de validade. O primeiro poço apresenta uma parte perfurada para facilitar a introdução da amostra. O último poço é uma cuvete que permite a leitura em fluorimetria. Os poços intermédios contêm os diferentes reagentes necessários à análise.

Descrição da barrete

Poços	Reagentes
1	Poço-amostra.
2	Diluente da amostra: Tampão TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos + azida sódica 1 g/l (600 µl).
3	Tampão de pré-lavagem: Tampão TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos + azida sódica 1 g/l (400 µl).
4 - 5 - 7	Tampão de lavagem: Tampão TRIS (0,05 mol/l) + detergente + azida sódica 1 g/l (600 µl).
6	Conjugado: Mistura titulada de anticorpos monoclonais de rato anti-IgG humanas marcados com fosfatase alcalina + azida sódica 1 g/l (400 µl).
8	Tampão de lavagem: Tampão DEA (360 mmol/l) + azida sódica 1 g/l (600 µl).
9	Diluente da amostra: Tampão TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos + azida sódica 1 g/l (300 µl).
10	Cuvete de leitura com substrato: 4-metil-umbeliferil fosfato (0,6 mmol/l) + dietanolamina DEA* (0,62 mol/l, ou seja, 6,6%) pH 9,2 + azida sódica 1 g/l (300 µl).

* **Reagente IRRITANTE:**
- **R 36**: irritante para os olhos.
- **S 26**: em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um especialista.

Para mais informações, consultar a ficha de segunça disponível a pedido.

MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO
- Pipeta de ponta descartável que permite a distribuição de 100 µl.
- Luvas sem pó de talco descartáveis.

PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO
- **Somente para uso em diagnóstico *in vitro*.**
- **Unicamente para uso profissional.**
- **Este dispositivo contém componentes de origem humana. Nenhum dos métodos de análise actualmente conhecidos pode garantir de maneira absoluta que estes produtos não contenham nenhum agente patogénico transmissível. É aconselhável manipulá-los com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos (consultar o manual : Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - última edição).**
- Este dispositivo contém componentes de origem animal. O controlo da origem e/ou do estado sanitário dos animais não pode garantir de maneira absoluta que estes produtos não contenham nenhum agente patogénico transmissível, é aconselhável manipulá-los com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos (não ingerir; não inalar).
- Considerar todas as amostras de pacientes como potencialmente infecciosas e respeitar as precauções de utilização. Eliminar os componentes utilizados e outros materiais contaminados em conformidade com os procedimentos em vigor para os produtos de origem humana potencialmente infecciosos (10-12).
- Não utilizar os cones se a saqueta/sachet estiver danificada.
- Não utilizar as barretes visivelmente alteradas (folha de alumínio ou de plástico danificada).
- Não utilizar os reagentes após a data de validade indicada na etiqueta da embalagem.
- Não misturar os reagentes (ou consumíveis) provenientes de números de lotes diferentes.
- Não utilizar **luvas com pó de talco**, o talco pode levar a falsos resultados para alguns testes imunoenzimáticos.
- Os reagentes da embalagem contêm um conservante (azida sódica), susceptível de reagir com as canalizações de chumbo ou de cobre dos lavatórios, formando azidas metálicas explosivas. É aconselhável passar por água qualquer produto de rejeição.
- O substrato (poço nº 10 da barrete) contém um agente irritante (dietanolamina 6,6%). Ter em atenção a frase de risco “R” e os conselhos de prudência “S” supra citados.

- As projecções devem ser tratadas com um líquido detergente ou uma solução de lixívia/água sanitária contendo, pelo menos 0,5 % de hipoclorito de sódio. Consultar o Manual de Utilização para eliminar as projecções sobre ou no interior do VIDAS. Não autoclavar produtos que contenham lixívia/água sanitária.
- Os elementos do módulo VIDAS e mini VIDAS devem ser regularmente limpos e descontaminados (consultar o Manual de utilização).

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

- Conservar a embalagem VIDAS HPY a 2° - 8° C.
- **Não congelar os reagentes.**
- **Deixar a 2° - 8° C os reagentes não utilizados.**
- Na abertura da embalagem, verificar se a(s) saqueta(s)/sachet(s) dos cones está(ão) bem fechada(s) e se não está(ão) danificada(s). Se não for o caso, não utilizar os cones.
- **Após cada utilização, fechar bem a saqueta/sachet com o desidratante para manter a estabilidade dos cones e colocar novamente a embalagem a 2° - 8° C.**
- Todos os componentes permanecem estáveis até à data de validade indicada na etiqueta da embalagem, se forem conservados nas condições exigidas.

AMOSTRAS

__Natureza e colheita/coleta das amostras__:

O teste VIDAS HPY deve ser efectuado com soro ou plasma (EDTA) não hemolisados e não contaminados.
Não aquecer os soros. As amostras que contêm partículas em suspensão devem ser clarificadas por centrifugação ou filtração antes da análise.

Mesmo não indicando os dados nenhuma interferência com a hemoglobina (500 mg/dl), os lípidos (2,0 mg/ml) ou a bilirrubina (30 mg/dl), não é aconselhada a utilização de amostras hemolisadas, ictéricas ou lipémicas. Efectuar, se possível, uma nova colheita/coleta.

__Estabilidade das amostras__

Qualquer amostra não testada no dia da colheita/coleta deve ser conservada a 2° - 8° C durante o máximo de 5 dias. Para além desse período, é possível congelar a amostra a -25° ± 6° C durante 2 meses. Não efectuar mais do que 2 ciclos de congelação e descongelação. Não testar amostras que apresentem uma contaminação microbiana visível.

PROCEDIMENTO

Para instruções completas, consultar o Manual de Utilização do VIDAS ou do mini VIDAS.

__Introdução dos dados do cartão MLE__

Na recepção de um novo lote, as especificações (ou dados de fabrico) devem ser introduzidas no aparelho (VIDAS ou mini VIDAS) usando o cartão MLE (ficha de especificações) incluído em cada embalagem. Se esta operação não for efectuada **antes de começar os testes**, o aparelho não poderá editar os resultados. Estas especificações introduzem-se uma única vez para cada lote.
É possível introduzir as especificações manual ou automaticamente com o cartão MLE.

__Calibração__

A calibração, utilizando o calibrador fornecido na embalagem, deve ser efectuada na abertura de cada novo lote após a introdução das especificações do lote e todos os 14 dias. Esta operação permite ajustar a calibração a cada aparelho e à evolução eventual do reagente no decorrer do tempo.
O calibrador, identificado por S1, será analisado em **duplicado** (consultar o Manual de Utilização). O valor do calibrador deve estar compreendido nos limites de RFV ("Relative Fluorescence Value") fixados. Se não for o caso: efectuar novamente uma calibração.

__Realização do teste__

1. **Tirar do frigorífico apenas os reagentes necessários, deixá-los 30 minutos à temperatura ambiente antes de os utilizar.**
2. Utilizar uma barrete "HPY" e um cone "HPY" para cada amostra, controlo ou calibrador a testar. **Verificar se a saqueta/sachet de cones está bem fechada após cada utilização.**
3. Digitar ou seleccionar "HPY" no aparelho para introduzir o código do teste. O calibrador identificado obrigatoriamente por "S1", deve ser utilizado **em duplicado**. Se o controlo positivo tiver de ser testado, será identificado por "C1". Se o controlo negativo tiver de ser testado, será identificado por "C2".
4. Homogeneizar em vortex o calibrador, os controlos e as amostras.
5. Pipetar **100 µl** de calibrador, de amostra ou de controlo no poço-amostra .
   (**NOTA**: verificar a ausência de bolhas de ar no poço-amostra após a pipetagem. Caso contrário, bater levemente nas barretes para eliminar as bolhas).
6. Colocar no aparelho os cones e as barretes nos locais indicados no ecrã/tela. Verificar a concordância dos códigos (cores e letras) entre o cone e a barrete.
7. Começar a análise (consultar o Manual de Utilização). Todas as etapas são geridas automaticamente pelo aparelho. A duração do teste é de cerca de 35 minutos.
8. Terminada a análise, retirar os cones e as barretes do aparelho.
9. Eliminar os cones e barretes utilizados num recipiente apropriado.

RESULTADOS

Terminado o teste, os resultados são analisados automaticamente pelo sistema informático. O aparelho efectua duas medidas de fluorescência na cuvete de leitura para cada teste. A primeira leitura corresponde ao branco da cuvete antes do substrato entrar em contacto com o cone. A segunda leitura é efectuada após incubação do substrato no cone.
O cálculo do RFV (Relative Fluorescence Value) é o resultado da diferença das duas medidas. Este aparece na folha de resultados.
O valor do teste é obtido dividindo o RFV da amostra pelo RFV do calibrador.

TV= Valor teste = RFV paciente / RFV calibrador

O valor do teste é então comparado com um limiar memorizado pelo aparelho e o resultado final é interpretado.

A interpretação dos resultados em função do valor do teste é a seguinte:
Os resultados com valores de teste inferiores ao limiar indicam que o paciente não apresenta anticorpos anti-*H. pylori* detectáveis.

Limiar e interpretação dos resultados

Valor do teste	Interpretação
TV < 0,75	Negativo
0,75 ≤ TV < 1,00	Equívoco
TV ≥ 1,00	Positivo

São impressos:
- o tipo de teste,
- a identificação do doente,
- a data e a hora,
- o número de lote e a data de validade da embalagem,
- para cada amostra, o RFV, o valor do teste e a interpretação.

A imprecisão inerente a qualquer método implica considerar incerta a interpretação de valores próximos do limiar; consequentemente, foi estabelecida uma zona equívoca com base no conhecimento desta imprecisão.
As amostras que apresentem valores de teste superiores ou iguais ao limiar alto são interpretados como positivos.
Para os valores compreendidos entre 0,75 e 1,00, efectuar novamente o teste com a colheita/coleta inicial, se possível. Se não for possível, efectuar uma nova colheita/coleta e repetir o teste.
Se houver novos resultados equívocos, deve recorrer-se a utilização de informações clínicas e outros testes de laboratório.
Os resultados não serão válidos se a leitura do branco (BDF) estiver acima de um limiar predeterminado (o que indica uma ligeira contaminação do substrato). Neste caso, repetir a análise com a colheita/coleta inicial.
Os resultados também não serão válidos se o calibrador não tiver sido validado para o número de lote da barrete do teste do doente. Neste caso, testar um calibrador em duplicado com barretes HPY que apresentem o mesmo número de lote que o teste do doente não validado. O resultado do teste do doente poderá então ser novamente calculado com o calibrador memorizado.
(Consultar o Manual de Utilização para informações complementares).

CONTROLO DE QUALIDADE

Um controlo positivo e um controlo negativo estão incluídos em cada embalagem VIDAS HPY.
Estes controlos devem ser utilizados na abertura de cada nova embalagem para verificar a ausência de alteração de reagentes. Cada calibração deve também ser verificada utilizando estes controlos. Para que o aparelho possa verificar o valor dos controlos, é necessário identificá-los por C1 e C2. O controlo positivo e o controlo negativo devem ser analisados em conformidade com as boas práticas de laboratório.
Se o valor dos controlos se afastar dos valores esperados, os resultados não podem ser validados.
Os valores esperados do calibrador também são memorizados no cartão MLE. Se os valores do calibrador se afastarem dos valores esperados, serão assinalados na folha de resultados. O sistema não calculará o valor de teste (VT) nem o RFV para os doentes e para os controlos.

Nota

É da responsabilidade do utilizador garantir que o controlo da qualidade é efectuado em conformidade com a legislação local em vigor.

LIMITES DO TESTE

1. O teste VIDAS HPY deve ser utilizado unicamente em pacientes que apresentem sinais clínicos de doença gastroduodenal. Não deve ser utilizado em doentes assintomáticos.
2. Como para qualquer teste de diagnóstico, os resultados obtidos com VIDAS HPY devem ser interpretados paralelamente com os resultados de outros testes laboratoriais, e com os dados clínicos disponíveis.
3. Um resultado positivo HPY não fornece nenhuma distinção entre uma infecção e uma colonização por *H. pylori*.
4. Um resultado positivo HPY indica a presença de anticorpos IgG *H. pylori,* mas não indica forçosamente que existe uma doença gastroduodenal.
5. Um resultado negativo HPY indica quer a ausência de IgG *H. pylori*, quer a sua presença a uma taxa não detectável pelo teste HPY.
6. O comportamento funcional não foi estabelecido no âmbito do seguimento do tratamento contra *H. pylori* (terapia antimicrobiana).
7. O comportamento funcional do teste não foi estabelecido para doentes com menos de 18 anos.
8. Pode ser detectada uma interferência com alguns soros contendo anticorpos dirigidos contra os componentes do reagente, por isso, os resultados deste teste devem ser interpretados tendo em conta o contexto clínico.

VALORES ESPERADOS

As infecções por *H. pylori* foram observadas no mundo inteiro, mas existe, no entanto, uma grande disparidade geográfica de prevalências. É sempre mais elevada nos países em vias de desenvolvimento (70% a 90%) que nos países industrializados (20% a 30%), estando as prevalências elevadas associadas a fracos níveis socio-económicos. Na população caucasiana (Estados Unidos e outros países industrializados), as infecções por *H. pylori* são muito raras nas crianças. A prevalência aumenta em seguida de 0,5% a 2% por ano de vida. Atinge os 50% nas pessoas com 60 anos ou mais. A prevalência parece ser superior na população negra e hispânica (13,14). Nos doentes que apresentavam úlceras duodenais, a frequência das infecções por *H. pylori* é de, aproximadamente, 80% para todas as faixas etárias (15).
Numa população de rotina (200 dadores de sangue), a percentagem de positivos com VIDAS HPY foi de 27,5% com uma percentagem de equívocos de 5,5%.
Os valores esperados para uma determinada população devem ser estabelecidos por cada laboratório. A percentagem de positividade pode variar em função de diferentes factores (país, idade, sexo da população estudada, estação do ano, tipo de colheita/coleta, etc…).

COMPORTAMENTO FUNCIONAL

Foi utilizado um total de 247 soros congelados e 100 soros frescos para avaliar a sensibilidade e a especificidade de VIDAS HPY.

Foram caracterizados por cultura 204 soros congelados: 99 amostras foram consideradas negativas e 105 positivas para *H. pylori.*

Foram testados 43 soros por histologia : 26 foram considerados negativos e 17 positivos.

Estes 247 soros congelados e 100 soros recentes foram também testados com outro método EIA comercializado.

Quadro 1

204 soros testados por cultura

Quadro 1

		Cultura	
		+	**-**
VIDAS HPY	**+**	103	9
	E	0	1
	-	2	89

1 resultado VIDAS equívoco (não incluído nos cálculos)

Sensibilidade clínica 98,10%
IC 95% 93,12 % - 99,77 %

Especificidade clínica 90,82%
IC 95% 83,28% - 95,71%
IC : Intervalo de confiança

Quadro 2

43 soros de pacientes analisados por histologia

Quadro 2

		Histologia	
		+	**-**
VIDAS	**+**	17	0
HPY	**-**	0	26

% de concordância de positivos	17/17	100 %
% de concordância de negativos	26/26	100 %
% de concordância de resultados	43/43	100 %

Quadro 3

247 soros testados com um método EIA comercializado.

Quadro 3

		EIA	
		+	**-**
VIDAS HPY	**+**	118	11**
	E* **	1	1
	-	2*	114

2 resultados VIDAS equívocos (não incluídos nos cálculos)

% de concordância de positivos	118/120	98,3%
% de concordância de negativos	114/125	91,2%
% de concordância de resultados	232/245	94,7%

* 2 soros positivos com o método EIA comercializado e negativos com VIDAS HPY foram considerados negativos por cultura.

**7 soros negativos com o método EIA comercializado e positivos com VIDAS HPY foram considerados negativos por cultura. Um soro negativo com o método EIA comercializado e positivo com VIDAS HPY foi considerado positivo por cultura. 3 soros negativos com o método EIA comercializado e positivos com VIDAS HPY foram considerados positivos por histologia.

***Um soro positivo com o método EIA comercializado e equívoco com VIDAS HPY foi considerado negativo por cultura. Um soro negativo com o método EIA comercializado e equívoco com VIDAS HPY foi considerado negativo por cultura.

Quadro 4

100 soros recentes testados com outro método EIA

Quadro 4

		EIA	
		+	-
VIDAS HPY	**+**	30	6
	E	1	0
	-	1	62

1 resultado VIDAS equívoco (não incluído nos cálculos)

% de concordância de positivos	30/31	96,8%
% de concordância de negativos	62/68	91,2%
% de concordância de resultados	92/99	92,9%

Os resultados discordantes não foram analisados com outro método de detecção de *H. pylori*.

REPRODUTIBILIDADE

Foi utilizado um painel de 6 pools de amostras (2 negativas, 2 positivas fracas e 2 positivas) para a reprodutibilidade de VIDAS HPY. Este painel foi testado em 3 locais. Cada pool foi testado 10 vezes num aparelho durante 3 dias. Os resultados combinados de precisão intra-série e total encontram-se no Quadro 5.

Foi utilizado o valor de teste (VT). O coeficiente de variação (%CV) não foi apresentado para os pools de amostras negativas, o desvio-padrão (DP) representa então a medida de variabilidade. Os resultados apresentam-se em conformidade com as normas do National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Quadro 5 (Todos os Locais)

		Negativo		**Positivo fraco**		**Positivo forte**	
N		90	90	90	90	90	90
Média dos VT		0,32	0,22	1,75	1,33	9,39	5,39
Precisão Intra-série	**DP**	0,02	0,01	0,07	0,06	0,25	0,20
	%CV	5,8	6,3	3,9	4,7	2,7	3,8
Precisão Inter-dias	**DP**	0,05	0,02	0,08	0,08	0,44	0,78
	%CV	16,1	11,0	4,5	6,0	4,6	14,4
Precisão total Inter-locais	**DP**	0,05	0,12	0,25	0,21	1,67	0,78
	%CV	NA	NA	14,2	15,5	17,8	14,4

NA=Não aplicável

REACÇÕES CRUZADAS

	VIDAS HPY
F.R. +	1/18
A.N.A.+	2/14
MNI +	0/19
Gripe +	0/11
HSV +	1/16
Toxoplasmose IgG +	0/14
Sífilis +	0/10
CMV IgG +	0/12
Lupus eritematoso +	0/3

Foram analisadas no total 122 amostras negativas em anticorpos anti-*H. pylori* (com um método EIA comercializado): 5 resultados VIDAS HPY equívocos foram excluídos do quadro (1 equívoco FR +, 2 equívocos ANA +, 1 equívoco gripe +, 1 equívoco toxoplasmose IgG +).

ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Para determinar a especificidade do teste, os microrganismos foram pré-incubados num pool de soros humanos anti-*H. pylori* positivos. Foram testados em triplicado.

Os microrganismos analisados encontram-se na lista seguinte e apresentam resultados conformes com o teste VIDAS HPY : os soros seropositivos permaneceram positivos após absorção de cada microrganismo, com excepção da estirpe/cepa de *H. pylori*.

Bacteroides fragilis
Borrelia burgdorferi
Campylobacter coli
Campylobacter fetus fetus
Campylobacter fetus venerealis
Campylobacter hyointestinalis
Campylobacter jejuni
Campylobacter lari
Campylobacter rectus
Candida albicans
Citrobacter freundii
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Helicobacter cinaedi
Helicobacter pylori
Klebsiella pneumoniae
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas fluorescens
Salmonella minnesota
Serratia liquefaciens
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Wolinella succinogenes
Yersinia enterocolitica

ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS

Eliminar os reagentes utilizados ou não utilizados e os materiais descartáveis contaminados em conformidade com os procedimentos relativos aos produtos infecciosos ou potencialmente infecciosos.

É da responsabilidade de cada laboratório gerir os resíduos e os efluentes que este produz consoante a sua natureza e o seu perigo, e assegurar (ou fazer assegurar) o tratamento e a eliminação em conformidade com as regulamentações aplicáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BUCK, G.E. 1990. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Clin. Microbiol. Rev. 3:1-12.
2. MARSHALL, B.J. and J.R. WARREN. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet I:1311-1314.
3. PETERSON, W.L. 1991. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. New England J. Med. 324(15):1043-1048.
4. BLASER, M.J. 1992. Hypothesis on the Pathogenesis and Natural History of *Helicobacter pylori*-Induced Inflammation. Gastroenterology. 102:720-727.
5. TAYLOR, D.N. and M.J. BLASER. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiol. Rev. 13:42-59.
6. MARSHALL. B.J. et al. 1988. Carbon-14 urea breath test for diagnosis of *Campylobacter pylori* associated gastritis. J. Nucl. Med. 29:11-16.
7. WILCOX, M.H. et al. 1996. Accuracy of serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection - a comparison of eight kits. J. Clin. Pathol. 49:373-376.
8. GRAHAM, D.Y. et al. 1987. *Campylobacter pylori* detected non-invasively by the C-13 urea breath test. Lancet 23:1174-1177.
9. TALLEY, N.J. et al. 1991. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. J. Clin. Microbiol. 29:1635-1639.
10. U.S. Department of Heath and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
11. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard, M29-A. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazard and /Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. NCCLS, Wayne Pa.
13. DOOLEY, C.P. et al. 1989. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. New England J. Med. 321:1562-1566.
14. GRAHAM, D.Y. et al. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology. 100:1495-1501.
15. LOFFELD, R.J., et al. 1991. The prevalence of anti-*Helicobacter (Campylobacter) pylori* antibodies in patients and healthy blood donors. J. Med. Microbiol. 32:105-109.

QUADRO DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
REF ou REF	Referência de catálogo
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Limites de temperatura
	Prazo de validade
LOT	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
Σ	Conteúdo suficiente para "n" ensaios

Brasil: Distribuído por bioMérieux Brasil S.A. - Estrada do Mapuá, 491 - Jacarepaguá - R.J. - CEP 22710-261
CNPJ: 33.040.635/0001-71
Atendimento ao Consumidor Tel.: 0800-264848
Prazo de Validade, N° de Lote, N° de Registro de Ministério da Saúde e Responsável Técnico:
VIDE EMBALAGEM



bioMérieux® sa
au capital de 11 879 045 €
673 620 399 RCS LYON

69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com



Impresso em França

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY)

IVD

Το VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY) είναι μια αυτοματοποιημένη ποιοτική εξέταση για χρήση στα όργανα VIDAS, για την ανίχνευση αντισωμάτων anti-*Helicobacter pylori* IgG σε ανθρώπινο ορό ή πλάσμα (EDTA) χρησιμοποιώντας την τεχνική ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay). Η ανάλυση VIDAS® HPY προορίζεται ως βοήθημα στη διάγνωση λοίμωξης από *H. pylori* σε ενήλικο συμπτωματικό πληθυσμό.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Έχει βρεθεί ότι η λοίμωξη από το *Helicobacter* (πρώην *Campylobacter*) *pylori*, ένα σπειροειδές μικροαερόφιλο βακτήριο, οδηγεί σε φλεγμονή του βλεννογόνου του στομάχου (γαστρίτιδα) και σε ορισμένα μολυσμένα άτομα, σε έλκη. Η λοίμωξη ίσως επίσης να παίζει κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη καρκίνου του στομάχου (1, 2, 3). Οι συμπτωματικοί ασθενείς με *H. pylori* θεωρείται ότι έχουν μολυνθεί, ενώ τα ασυμπτωματικά άτομα με *H. pylori* θεωρείται ότι έχουν αποικιστεί. Οι περισσότεροι άνθρωποι που έχουν αποικιστεί από το *H. pylori* δεν αναπτύσσουν ποτέ έλκος και παραμένουν ασυμπτωματικοί παρά τον αποικισμό για πολλά χρόνια, ακόμα και δεκαετίες (4, 5).

Υπάρχουν επεμβατικές και μη επεμβατικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό της παρουσίας του *H. pylori*. Η βιοψία με ενδοσκόπηση χρησιμοποιείται παραδοσιακά για να προκύψουν δείγματα γαστρικού ή δωδεκαδακτυλικού ιστού για επακόλουθη χρώση, καλλιέργεια, ή/και απευθείας ανίχνευση ουρεάσης.

Με τη βιοψία, ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν σε μολυσμένα άτομα λόγω της μη ομοιόμορφης κατανομής του *H. pylori* στο δείγμα ή με τη λήψη ιστού με μη βιώσιμο *H. pylori* ή *H. pylori* που δεν παράγει ουρεάση (6). Επιπλέον, οι επεμβατικές μέθοδοι όπως η ενδοσκόπηση, προκαλούν δυσφορία στον ασθενή, ενέχουν κίνδυνο και είναι δαπανηρές στην εκτέλεση.

Οι μη επεμβατικές μέθοδοι περιλαμβάνουν εξετάσεις εκπνοής ουρίας και ορολογικές μεθόδους. Οι εξετάσεις εκπνοής ουρίας ανιχνεύουν την παρουσία του *H. pylori* μέσω της έντονα ενεργής ουρεάσης. Χορηγείται στον ασθενή ουρία σημασμένη με άνθρακα-14 ή άνθρακα-13, και προσδιορίζεται η παρουσία του εκπνεόμενου διοξειδίου του άνθρακα μέσω σπινθηρισμού ή φασματομετρίας μάζας. Η έκθεση του ασθενή σε ραδιοϊσότοπα και ο δαπανηρός εξοπλισμός αποτελούν μειονεκτήματα της εξέτασης εκπνοής ουρίας (6, 7, 8).

Οι ασθενείς που έχουν μολυνθεί από το *H. pylori* αναπτύσσουν αντισώματα ορού, τα οποία συσχετίζονται με την παρουσία ιστολογικά επιβεβαιωμένης μόλυνσης από το *H. pylori*.

Οι ορολογικές μέθοδοι (όπως οι ανοσοενζυμικές αναλύσεις) είναι μη επεμβατικές, οικονομικές, ταχείες, εύκολες στην εκτέλεση και σε σύγκριση με τις επεμβατικές μεθόδους, το κύριο πλεονέκτημα είναι ότι οι ορολογικές μέθοδοι δεν στηρίζονται στην ακρίβεια της δειγματοληψίας (7, 9).

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η αρχή της ανάλυσης συνδυάζει μια ανοσοενζυμική μέθοδο sandwich 2 σταδίων με μια τελική ανίχνευση φθορισμού (ELFA). Όλα τα στάδια της ανάλυσης καθώς και η θερμοκρασία της ανάλυσης ελέγχονται αυτόματα από το όργανο. Ο Υποδοχέας Στερεάς Φάσης (SPR) χρησιμεύει ως στερεά φάση καθώς και ως ρύγχος αναρρόφησης για την ανάλυση. Τα αντιδραστήρια για την ανάλυση είναι έτοιμα προς χρήση και προδιανεμημένα στις σφραγισμένες ταινίες αντιδραστηρίων.

Μετά το προκαταρκτικό στάδιο έκπλυσης και τα στάδια αραίωσης του δείγματος, το δείγμα αναρροφάται και εκροφάται από τον SPR για ορισμένο χρονικό διάστημα. Τα αντισώματα IgG του *H. pylori* που βρίσκονται στο δείγμα θα συνδεθούν με το αντιγόνο *H. pylori* το οποίο επικαλύπτει το εσωτερικό του SPR. Μη συνδεδεμένα συστατικά του δείγματος απομακρύνονται με έκπλυση.

Τα συζευγμένα με αλκαλική φωσφατάση anti-human αντισώματα IgG αναρροφώνται και εκροφώνται από τον SPR και συνδέονται με ανθρώπινα IgG τα οποία είναι συνδεδεμένα στο τοίχωμα του SPR. Ένα τελικό στάδιο έκπλυσης απομακρύνει το μη συνδεδεμένο σύζευγμα anti-human αντίσωμα.

Κατά τη διάρκεια του τελικού σταδίου ανίχνευσης, το υπόστρωμα (Φωσφορική 4-Μεθυλ-ουμπελιφερύλη) αναρροφάται και εκροφάται από τον SPR. Το συζευγμένο ένζυμο καταλύει την υδρόλυση αυτού του υποστρώματος σε ένα φθορίζον προϊόν (4-Μεθυλ-ουμπελιφερόνη), ο φθορισμός του οποίου μετράται στα 450 nm. Η ένταση του φθορισμού μετράται από τον οπτικό σαρωτή του οργάνου VIDAS. Στο τέλος της ανάλυσης, τα αποτελέσματα υπολογίζονται αυτόματα από το όργανο, δημιουργείται μια τιμή εξέτασης και εκτυπώνεται μια αναφορά για κάθε δείγμα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ (30 ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ) :

30 Ταινίες HPY	STR	Έτοιμες προς χρήση.
30 SPRs HPY (1 x 30)	SPR	Έτοιμοι προς χρήση. Το εσωτερικό των SPRs επικαλύπτεται με καθαρό αντιγόνο *H. pylori*.
Πρότυπο διάλυμα HPY (1 x 2 ml)	S1	Έτοιμο προς χρήση. Ανθρώπινος* ορός που περιέχει αντισώματα anti-*H. pylori* + 1 g/l αζίδιο του νατρίου. Το διάστημα εμπιστοσύνης σε "Relative Fluorescence Value" σημειώνεται πάνω στην κάρτα MLE με την αναφορά : "Standard (S1) RFV Range".
Θετικός ορός ελέγχου HPY (1 x 1,5 ml)	C1	Έτοιμος προς χρήση. Ανθρώπινος* ορός που περιέχει αντισώματα anti-*H. pylori* + 1 g/l αζίδιο του νατρίου. Το διάστημα εμπιστοσύνης «Τιμής εξέτασης» (TV) σημειώνεται πάνω στην κάρτα MLE με την αναφορά : "Control C1 Test Value Range".
Αρνητικός ορός ελέγχου HPY (1 x 1,5 ml)	C2	Έτοιμος προς χρήση. Ανθρώπινος* ορός που δεν περιέχει αντισώματα anti-*H. pylori* + 1 g/l αζίδιο του νατρίου. Το διάστημα εμπιστοσύνης «Τιμής εξέτασης» (TV) σημειώνεται πάνω στην κάρτα MLE με την αναφορά : "Control C2 Test Value Range".
1 Κάρτα MLE		Φύλλο προδιαγραφών που περιέχει τα εργοστασιακά πρότυπα δεδομένα βαθμονόμησης τα οποία απαιτούνται για τη βαθμονόμηση της εξέτασης.
1 Εσώκλειστο οδηγιών		

* Το προϊόν αυτό έχει εξεταστεί και έχει εμφανιστεί να είναι αρνητικό ως προς το αντιγόνο επιφανείας HBs, και τα αντισώματα HIV1, HIV2 και HCV. Εντούτοις, εφόσον καμία υπάρχουσα μέθοδος εξέτασης δεν μπορεί να εγγυηθεί πλήρως την απουσία τους, αυτό το προϊόν πρέπει να αντιμετωπίζεται ως δυνητικώς μολυσματικό. Γι' αυτό, πρέπει να τηρούνται οι συνήθεις διαδικασίες ασφαλείας, κατά τον χειρισμό του.

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Κάθε εξέταση VIDAS® HPY απαιτεί μια Ταινία Αντιδραστηρίου HPY και ένα SPR HPY.

Ο SPR

Το εσωτερικό του SPR επικαλύπτεται κατά την παραγωγή με καθαρά αντιγόνα *H. pylori*. Κάθε SPR ταυτοποιείται από τον κωδικό HPY. Αφαιρέστε μόνο τον απαιτούμενο αριθμό SPRs από το φάκελο και **ξανασφραγίστε ερμητικά το φάκελο μετά το άνοιγμα**.

Η ταινία

Η ταινία αποτελείται από 10 κυψέλες καλυμμένες με σημασμένο φύλλο αλουμινίου. Η σήμανση περιλαμβάνει γραμμοκώδικα, ο οποίος υποδεικνύει κυρίως τον κωδικό ανάλυσης, τον αριθμό παρτίδας συσκευασίας και την ημερομηνία λήξης. Το φύλλο αλουμινίου της πρώτης κυψέλης είναι διατετρημένο προς διευκόλυνση της εισαγωγής του δείγματος. Η τελευταία κυψέλη κάθε ταινίας είναι μια κυβέττα στην οποία πραγματοποιείται η ανάγνωση φθορισμού. Οι κυψέλες στην κεντρική περιοχή της ταινίας περιέχουν τα διάφορα αντιδραστήρια που απαιτούνται για την ανάλυση.

Περιγραφή της ταινίας

Κυψέλες	Αντιδραστήρια
1	Κυψέλη Δείγματος.
2	Αραιωτικό Δείγματος: Ρυθμιστικό διάλυμα φυσιολογικού ορού TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + πρωτεϊνικοί σταθεροποιητές + 1 g/l αζίδιο του νατρίου (600 µl).
3	Ρυθμιστικό διάλυμα προ-έκπλυσης: Ρυθμιστικό διάλυμα φυσιολογικού ορού TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + πρωτεϊνικοί σταθεροποιητές + 1 g/l αζίδιο του νατρίου (400 µl).
4 - 5 - 7	Ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης: Ρυθμιστικό διάλυμα φυσιολογικού ορού TRIS (0,05 mol/l) + απορρυπαντικό +1g/l αζίδιο του νατρίου (600 µl).
6	Σύμπλοκο: σημασμένο με αλκαλική φωσφατάση τιτλοδοτημένο μείγμα μονοκλωνικού anti-human IgG ποντικού + 1 g/l αζίδιο του νατρίου (400 µl).
8	Ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης: Ρυθμιστικό διάλυμα DEA (360 mmol/l) +1g/l αζίδιο του νατρίου (600 µl).
9	Αραιωτικό δείγματος: Ρυθμιστικό διάλυμα TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + πρωτεϊνικοί σταθεροποιητές + 1 g/l αζίδιο του νατρίου (300 µl).
10	Κυβέττα με υπόστρωμα: Φωσφορική 4-Μεθυλ-ουμπελιφερύλη (0,6 mmol/l) + διαιθανολαμίνη DEA* (0,62 mol/l ή 6,6%), pH 9,2 + 1 g/l αζίδιο του νατρίου (300 µl).

*** ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΟ αντιδραστήριο:**
- **R 36 :** Ερεθίζει τα μάτια.
- **S 26 :** Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια πλύνετέ τα αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή.

Για επιπλέον πληροφορίες, αναφερθείτε στο Δελτίο Δεδομένων Ασφαλείας, διαθέσιμο εφόσον ζητηθεί.

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΜΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

- Πιπέττα με αναλώσιμο ρύγχος, βαθμονομημένη να διανέμει 100 µl.
- Γάντια μιας χρήσης, χωρίς ταλκ.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- **Αποκλειστικά για *in vitro* διαγνωστική χρήση.**
- **Αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση.**
- **Αυτή η συσκευασία περιέχει προϊόντα ανθρώπινης προέλευσης. Καμία γνωστή μέθοδος ανάλυσης δε μπορεί να εγγυηθεί πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα προϊόντα να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (βλέπε Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva – Τελευταία έκδοση).**
- Αυτή η συσκευασία περιέχει προϊόντα ζωικής προέλευσης. Πιστοποιημένη γνώση της προέλευσης ή/και της υγειονομικής κατάστασης των ζώων δεν εγγυάται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα προϊόντα να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μην λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).
- Θεωρήστε όλα τα δείγματα ασθενών ως δυνητικώς μολυσματικά και τηρήστε τις συνήθεις προφυλάξεις βιολογικής ασφάλειας. Απορρίψτε όλα τα χρησιμοποιημένα συστατικά και τα άλλα επιμολυσμένα υλικά με αποδεκτές διαδικασίες για δυνητικώς επικίνδυνα βιολογικά προϊόντα ανθρώπινου αίματος (10-12).
- Μη χρησιμοποιείτε τους SPRs σε περίπτωση που ο φάκελος είναι τρυπημένος.
- Μη χρησιμοποιείτε STRs που παρουσιάζουν ορατές φθορές (κατεστραμμένο φύλλο αλουμινίου ή πλαστικό).
- Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.
- Μην αναμειγνύετε αντιδραστήρια (ή αναλώσιμα) από διαφορετικές παρτίδες.
- Χρησιμοποιείτε γάντια **χωρίς ταλκ**, καθώς έχει αναφερθεί ότι το ταλκ μπορεί να προκαλέσει εσφαλμένα αποτελέσματα σε ορισμένες ανοσοενζυμικές εξετάσεις.
- Τα αντιδραστήρια της συσκευασίας περιέχουν αζίδιο του νατρίου που μπορεί να αντιδράσει με μόλυβδο ή χαλκό υδραυλικών σωληνώσεων σχηματίζοντας εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Αν οποιοδήποτε υγρό που περιέχει αζίδιο του νατρίου απορρίπτεται στο υδραυλικό σύστημα, οι σωληνώσεις πρέπει να ξεπλένονται με νερό για να αποφεύγεται η συσσώρευση.
- Το υπόστρωμα στην κυψέλη 10 περιέχει έναν ερεθιστικό παράγοντα (6,6% διαιθανολαμίνη). Ανατρέξτε στις φράσεις κινδύνου "R" και ασφαλείας "S" παραπάνω.
- Τυχόν κηλίδες από χυμένα αντιδραστήρια και δείγματα θα πρέπει να σκουπίζονται επισταμένως μετά από χρήση απολυμαντικού υγρού και διαλύματος οικιακής χλωρίνης με περιεκτικότητα τουλάχιστον 0,5% σε υποχλωριώδες νάτριο. Βλέπε το Εγχειρίδιο Χρήσης VIDAS για τον καθαρισμό κηλίδων επάνω ή μέσα στο όργανο. Μην τοποθετείτε στο αυτόκαυστο διαλύματα που περιέχουν χλωρίνη.
- Τα όργανα VIDAS και mini VIDAS θα πρέπει να καθαρίζονται και να απολυμαίνονται τακτικά (βλέπε το Εγχειρίδιο Χρήσης).

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΦΥΛΑΞΗΣ

- Φυλάσσετε τη συσκευασία VIDAS HPY στους 2-8°C.
- **Μην καταψύχετε τα αντιδραστήρια.**
- **Φυλάσσετε όλα τα μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια στους 2-8°C.**
- Μετά το άνοιγμα της συσκευασίας, ελέγξτε αν ο φάκελος που περιέχει τους SPRs είναι ερμητικά σφραγισμένος και άθικτος. Σε αντίθετη περίπτωση, μη χρησιμοποιείτε τους SPRs.
- **Ξανασφραγίστε προσεκτικά το φάκελο με τον αφυγραντή στο εσωτερικό του μετά τη χρήση ώστε να διατηρείται η σταθερότητα των SPRs και επανατοποθετείστε την πλήρη συσκευασία στους 2-8°C.**
- Αν η συσκευασία φυλάσσεται στις συνιστώμενες συνθήκες, όλα τα συστατικά είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Τύπος δείγματος και συλλογή:

Η εξέταση VIDAS HPY θα πρέπει να εκτελείται σε ορούς ή πλάσμα (EDTA), οι οποίοι δεν πρέπει να είναι αιμολυμένοι ή μολυσμένοι.
Μη θερμαίνετε τον ορό. Τα δείγμα που περιέχουν σωματιδιακό υλικό θα πρέπει να διαχωρίζονται με φυγοκέντρηση ή διήθηση πριν από την εξέταση.

Παρόλο που τα δεδομένα δεν υποδεικνύουν παρεμβολή στην αιμοσφαιρίνη (500 mg/dl), τα λιπίδια (2,0 mg/ml), ή τη χολερυθρίνη (30 mg/dl), δεν συνιστάται η χρήση αιμολυμένων, ικτερικών ή λιπαιμικών δειγμάτων. Εάν είναι δυνατόν, θα πρέπει να συλλέγεται ένα νέο δείγμα.

Σταθερότητα δείγματος

Εάν ένα δείγμα δεν εξεταστεί την ημέρα της συλλογής, μπορεί να φυλάσσεται στους 2-8°C μέχρι 5 ημέρες. Εάν απαιτείται πιο εκτεταμένη φύλαξη, καταψύξτε στους -25 ± 6°C μέχρι 2 μήνες. Μην υπερβαίνετε τους δύο κύκλους κατάψυξης και απόψυξης. Μην εξετάζετε δείγματα με εμφανή μικροβιακή επιμόλυνση.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Για πλήρεις οδηγίες, βλέπε το Εγχειρίδιο Χρήσης VIDAS ή mini VIDAS.

Εισαγωγή πρότυπων δεδομένων παρτίδας

Πριν από τη χρήση κάθε νέας παρτίδας αντιδραστηρίων, οι προδιαγραφές (ή τα πρότυπα εργοστασιακά δεδομένα καμπύλης βαθμονόμησης) πρέπει να εισάγονται στο όργανο (VIDAS ή mini VIDAS) χρησιμοποιώντας την κάρτα (MLE) εισαγωγής πρότυπων δεδομένων παρτίδας (φύλλο προδιαγραφών) που συμπεριλαμβάνεται σε κάθε συσκευασία. Αν δεν διεξαχθεί αυτή η λειτουργία **πριν από την έναρξη των εξετάσεων,** το όργανο δεν θα μπορεί να εκτυπώσει τα αποτελέσματα. Τα πρότυπα δεδομένα παρτίδας χρειάζεται να εισαχθούν μόνο μια φορά για κάθε παρτίδα.
Είναι δυνατόν τα δεδομένα να εισαχθούν αυτόματα χρησιμοποιώντας την κάρτα MLE ή χειροκίνητα.

Βαθμονόμηση

Η βαθμονόμηση, με τη χρήση του πρότυπου διαλύματος που παρέχεται στη συσκευασία, πρέπει να διεξάγεται κάθε φορά που ανοίγεται μια νέα παρτίδα αντιδραστηρίων, αφού έχουν εισαχθεί τα πρότυπα δεδομένα παρτίδας. Κατόπιν θα πρέπει να διεξάγεται βαθμονόμηση κάθε 14 ημέρες. Η λειτουργία αυτή εξασφαλίζει ειδικές για το όργανο καμπύλες βαθμονόμησης και αντισταθμίζει πιθανές ελάσσονες μεταβολές στο σήμα της ανάλυσης καθ' όλη τη διάρκεια ζωής της συσκευασίας.

Το πρότυπο διάλυμα, ταυτοποιούμενο ως S1, πρέπει να εξετάζεται **εις διπλούν** (βλέπε Εγχειρίδιο Χρήσης). Η τιμή του πρότυπου διαλύματος πρέπει να βρίσκεται εντός των ορίων της οριζόμενης RFV "Relative Fluorescence Value". Σε περίπτωση που αυτό δεν επιτευχθεί, επαναβαθμονομήστε.

Διαδικασία

1. **Βγάλτε από το ψυγείο μόνο τα απαιτούμενα αντιδραστήρια και αφήστε τα τουλάχιστον 30 λεπτά ώστε να έλθουν σε θερμοκρασία δωματίου.**
2. Χρησιμοποιήστε μια ταινία "HPY" και έναν SPR "HPY" για κάθε δείγμα, ορό ελέγχου ή πρότυπο διάλυμα που πρόκειται να εξεταστεί. **Βεβαιωθείτε ότι ο φάκελος φύλαξης ξανασφραγίζεται μετά την αφαίρεση των απαιτούμενων SPRs.**
3. Πληκτρολογήστε ή επιλέξτε "HPY" προκειμένου να εισάγετε τον κωδικό εξέτασης. Το πρότυπο διάλυμα πρέπει να ταυτοποιηθεί ως "S1", και να εξεταστεί **εις διπλούν**. Αν πρόκειται να εξεταστεί ο θετικός ορός ελέγχου, θα πρέπει να ταυτοποιηθεί ως "C1". Αν χρειάζεται να εξεταστεί ο αρνητικός ορός ελέγχου, θα πρέπει να ταυτοποιηθεί ως "C2".
4. Αναδεύστε έντονα το πρότυπο διάλυμα, τους ορούς ελέγχου, και τα δείγματα χρησιμοποιώντας έναν περιδινητή τύπου Vortex.
5. Εισάγετε **100 µl** πρότυπου διαλύματος, δείγματος ή ορού ελέγχου στην κυψέλη δείγματος.
(**ΣΗΜΕΙΩΣΗ**: Ελέγξτε τις κυψέλες δείγματος για φυσαλίδες μετά την εισαγωγή και χτυπήστε ελαφρά για να αφαιρεθούν τυχόν υπάρχουσες φυσαλίδες).
6. Εισάγετε τους SPRs και τις ταινίες στο όργανο. Ελέγξτε, να βεβαιωθείτε, ότι οι έγχρωμες ετικέτες με τον κωδικό ανάλυσης στους SPRs και στις Ταινίες των Αντιδραστηρίων ταιριάζουν.
7. Ξεκινήστε την ανάλυση όπως περιγράφεται στο Εγχειρίδιο Χρήσης. Όλα τα στάδια της ανάλυσης εκτελούνται αυτόματα από το όργανο. Η ανάλυση θα ολοκληρωθεί σε περίπου 35 λεπτά.
8. Αφού ολοκληρωθεί η ανάλυση, απομακρύνετε τους SPRs και τις ταινίες από το όργανο.
9. Απορρίψτε τους χρησιμοποιημένους SPRs και τις ταινίες σε κατάλληλο δοχείο.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Αφού ολοκληρωθεί η ανάλυση, τα αποτελέσματα αναλύονται αυτόματα από τον υπολογιστή. Ο φθορισμός μετράται δυο φορές στην κυβέττα ανάγνωσης της Ταινίας Αντιδραστηρίου για κάθε εξεταζόμενο δείγμα. Η πρώτη ανάγνωση αποτελεί την αρχική μέτρηση (background) της κυβέττας του υποστρώματος πριν από την εισαγωγή του SPR στο υπόστρωμα. Η δεύτερη ανάγνωση λαμβάνεται αφού επωαστεί το υπόστρωμα με το ένζυμο που παραμένει στο εσωτερικό του SPR. Η RFV (Σχετική Τιμή Φθορισμού) υπολογίζεται αφαιρώντας την αρχική μέτρηση από το τελικό αποτέλεσμα.

TV=Τιμή Εξέτασης = RFV ασθενούς / RFV πρότυπου διαλύματος

Η Τιμή Εξέτασης συγκρίνεται μετά με ένα όριο που αποθηκεύεται από το όργανο και το τελικό αποτέλεσμα ερμηνεύεται.

Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της εξέτασης που βασίζεται στην Τιμή Εξέτασης έχει ως εξής:

Αποτελέσματα με τιμές εξέτασης μικρότερες από το χαμηλότερο όριο υποδεικνύουν ότι ο ασθενής δεν έχει ανιχνεύσιμα αντισώματα anti-*H. pylori*.

Όρια και Ερμηνεία Αποτελεσμάτων

Όριο Τιμής Εξέτασης	**Ερμηνεία**
TV < 0,75	Αρνητικό
0,75 ≤ TV < 1,00	Αμφίβολο
TV ≥ 1,00	Θετικό

Εκτυπώνεται μια αναφορά η οποία καταγράφει:
- τον τύπο της εξέτασης που πραγματοποιήθηκε,
- την ταυτοποίηση του δείγματος,
- την ημερομηνία και την ώρα,
- τον αριθμό παρτίδας και την ημερομηνία λήξης της συσκευασίας αντιδραστηρίου που χρησιμοποιείται,
- την RFV του δείγματος, την τιμή εξέτασης και την ερμηνεία του αποτελέσματος.

Η εγγενής ανακρίβεια σε οποιαδήποτε από τις μεθόδους συνεπάγεται έλλειψη εμπιστοσύνης στα δείγματα με τιμές εξέτασης πολύ κοντά στα όρια. Συνεπώς, καθιερώνεται μια αμφίβολη ζώνη μεταξύ των ορίων που βασίζεται σε στατιστική κατανόηση αυτής της ανακρίβειας.

Δείγματα με τιμές εξέτασης μεγαλύτερες από ή ίσες με το υψηλό όριο αναφέρονται ως θετικά.

Δείγματα με τιμές εξέτασης μεταξύ 0,75 και 1,00 θα πρέπει να επαναλαμβάνονται με το αρχικό δείγμα, εάν είναι διαθέσιμο. Εάν δεν είναι διαθέσιμο το αρχικό δείγμα, λάβετε ένα δείγμα πρόσφατης συλλογής και επαναλάβετε την ανάλυση.

Εάν το δείγμα εξακολουθεί να δίνει αμφίβολο αποτέλεσμα, θα πρέπει να μελετηθούν τα κλινικά δεδομένα και άλλες διαθέσιμες εργαστηριακές εξετάσεις.

Μη έγκυρα αποτελέσματα αναφέρονται όταν η αρχική μέτρηση είναι πάνω από μία προκαθορισμένη τιμή (υποδηλώνει υπόστρωμα χαμηλού επιπέδου μόλυνσης). Σε αυτή την περίπτωση, επαναλάβετε την ανάλυση με το αρχικό δείγμα.

Ένα μη έγκυρο αποτέλεσμα εμφανίζεται επίσης εάν δεν υπάρχει διαθέσιμο πρότυπο διάλυμα για τον αριθμό παρτίδας της ταινίας εξέτασης του ασθενή. Σε αυτή την περίπτωση, εκτελέστε ένα πρότυπο διάλυμα εις διπλούν σε ταινίες HPY με τον ίδιο αριθμό παρτίδας όπως και στην μη έγκυρη εξέταση ασθενή. Το αποτέλεσμα της εξέτασης του ασθενή μπορεί μετά να υπολογιστεί εκ νέου χρησιμοποιώντας το νέο αποθηκευμένο πρότυπο διάλυμα.
(Αναφερθείτε στο Εγχειρίδιο Χρήσης για λεπτομερή επεξήγηση).

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Σε κάθε συσκευασία VIDAS HPY συμπεριλαμβάνεται ένας θετικός και ένας αρνητικός ορός ελέγχου.
Αυτοί οι οροί πρέπει να ελέγχονται αμέσως μετά το άνοιγμα μιας νέας συσκευασίας ώστε να εξασφαλίζεται ότι η απόδοση του αντιδραστηρίου δεν έχει μεταβληθεί. Κάθε βαθμονόμηση πρέπει επίσης να ελέγχεται χρησιμοποιώντας αυτούς τους ορούς ελέγχου. Το όργανο θα μπορεί να ελέγξει τις τιμές των ορών ελέγχου, μόνο αν αυτοί ταυτοποιηθούν ως C1 και C2. Οι θετικοί και αρνητικοί οροί ελέγχου πρέπει να εξετάζονται ακολουθώντας τις Ορθές Εργαστηριακές Πρακτικές.
Τα αποτελέσματα δεν μπορούν να επικυρωθούν αν οι τιμές των ορών ελέγχου αποκλίνουν από τις αναμενόμενες τιμές.
Το εύρος των αναμενόμενων τιμών του πρότυπου διαλύματος της συσκευασίας εισάγεται στο σύστημα VIDAS μέσω της κάρτας MLE. Οι τιμές του πρότυπου διαλύματος που δεν βρίσκονται σε αυτό το εύρος θα επισημαίνονται ως μη έγκυρες και το σύστημα δεν μπορεί να υπολογίσει την τιμή RFV του ορού ελέγχου και του ασθενή καθώς και την Τιμή Εξέτασης (TV).

Σημείωση

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να διεξάγει τον Ποιοτικό Έλεγχο σύμφωνα με τους εκάστοτε τοπικούς ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΜΕΘΟΔΟΥ

1. Η ανάλυση VIDAS HPY θα πρέπει να χρησιμοποιείται αποκλειστικά για την αξιολόγηση ασθενών με κλινικές ενδείξεις και συμπτώματα γαστροδωδεκαδακτυλικής νόσου και δεν προορίζεται για χρήση σε ασυμπτωματικούς ασθενείς.
2. Όπως συμβαίνει με οποιαδήποτε διαγνωστική εξέταση, τα αποτελέσματα της εξέτασης VIDAS HPY IgG θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με άλλα εργαστηριακά και κλινικά δεδομένα που έχει στη διάθεσή του ο κλινικός ιατρός.
3. Ένα θετικό αποτέλεσμα της ανάλυσης HPY δεν διακρίνει την ενεργή λοίμωξη από τον αποικισμό με *H. pylori*.
4. Ένα θετικό αποτέλεσμα της ανάλυσης HPY υποδηλώνει μόνο την παρουσία αντισωμάτων IgG για *H. pylori* και δεν υποδηλώνει απαραίτητα την παρουσία γαστροδωδεκαδακτυλικής νόσου.
5. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα της ανάλυσης HPY υποδηλώνει είτε ότι αντισώματα IgG για το *H. pylori* δεν υπάρχουν ή ότι βρίσκονται σε μη ανιχνεύσιμα για την ανάλυση HPY επίπεδα.
6. Η απόδοση δεν έχει αποδειχθεί για την παρακολούθηση των αποτελεσμάτων αντιμικροβιακής θεραπευτικής αγωγής για τη θεραπεία από το *H. pylori*.
7. Η ανάλυση δεν έχει καθιερωθεί για ασθενείς κάτω των 18 ετών.
8. Μπορεί να παρατηρηθεί παρεμβολή σε ορισμένους ορούς που περιέχουν αντισώματα έναντι συστατικών του αντιδραστηρίου. Για αυτόν το λόγο, τα αποτελέσματα της ανάλυσης θα πρέπει να ερμηνεύονται λαμβάνοντας υπόψη το ιστορικό του ασθενή και τα αποτελέσματα από όποιες άλλες εξετάσεις έχουν πραγματοποιηθεί.

ΕΥΡΟΣ ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΩΝ ΤΙΜΩΝ

Η λοίμωξη από το *H. pylori* συναντάται παγκοσμίως αλλά η γεωγραφική κατανομή επιπολασμού διαφέρει ευρέως. Είναι πάντα υψηλότερη στις αναπτυσσόμενες χώρες (70-90%) από ότι στις βιομηχανοποιημένες χώρες (20-30%), και ο υψηλότερος επιπολασμός σχετίζεται με χαμηλότερα κοινωνικοοικονομικά επίπεδα. Στους Καυκάσιους πληθυσμούς των Ηνωμένων Πολιτειών και σε άλλες βιομηχανοποιημένες χώρες, η λοίμωξη *H. pylori* είναι σπάνια στην παιδική ηλικία αλλά για κάθε έτος ηλικίας ο επιπολασμός αυξάνεται κατά 0,5-2%, φθάνοντας 50% περίπου σε άτομα ηλικίας 60 ετών και άνω. Τα ποσοστά επιπολασμού φαίνεται να είναι υψηλότερα σε έγχρωμους και Ισπανόφωνους από ότι στους λευκούς (13,14). Η συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης από το *H. pylori* σε ασθενείς που έχουν διαγνωστεί με έλκος του δωδεκαδάκτυλου είναι περίπου 80% σε όλες τις ηλικιακές ομάδες (15).

Σε ένα τυχαίο πληθυσμό 200 εμφανώς υγιών αιμοδοτών που εξετάστηκαν χρησιμοποιώντας VIDAS HPY, το ποσοστό θετικών αποτελεσμάτων ήταν 27,5% με ένα αμφίβολο ποσοστό 5,5%.
Οι αναμενόμενες τιμές για ένα δεδομένο πληθυσμό θα πρέπει να προσδιορίζονται για κάθε εργαστήριο. Το ποσοστό θετικότητας για οποιαδήποτε εξέταση μπορεί να ποικίλει ανάλογα με παράγοντες όπως η γεωγραφική θέση, η ηλικία, το φύλο του υπό μελέτη πληθυσμού, η εποχή του χρόνου, οι διαδικασίες συλλογής και χειρισμού του δείγματος, κλπ.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 247 κατεψυγμένα δείγματα ορού και 100 δείγματα ορού πρόσφατης συλλογής για την αξιολόγηση της απόδοσης ευαισθησίας και ειδικότητας του VIDAS HPY.

Διακόσια τέσσερα κατεψυγμένα δείγματα ορού χαρακτηρίστηκαν επαρκώς με καλλιέργεια. Ενενήντα εννέα δείγματα θεωρήθηκαν αρνητικά για *H. pylori* και 105 δείγματα θεωρήθηκαν θετικά.

Σαράντα τρία κατεψυγμένα δείγματα ορού ορίστηκαν με ιστολογία. Είκοσι έξι δείγματα θεωρήθηκαν αρνητικά και 17 δείγματα θεωρήθηκαν θετικά.

Τα ίδια 247 κατεψυγμένα δείγματα ορού και 100 δείγματα ορού πρόσφατης συλλογής αξιολογήθηκαν επίσης με μια ανταγωνιστική μέθοδο EIA.

Πίνακας 1

204 δείγματα ορού ορίστηκαν με καλλιέργεια

Πίνακας 1

		Καλλιέργεια	
		+	**-**
VIDAS HPY	**+**	103	9
	E	0	1
	-	2	89

1 αμφίβολο αποτέλεσμα VIDAS (δεν συμπεριλαμβάνεται στους υπολογισμούς)

Κλινική Ευαισθησία 98,10%
95% CI 93,12% - 99,77%

Κλινική Ειδικότητα 90,82%
95% CI 83,28% - 95,71%
CI: Διάστημα Εμπιστοσύνης

Πίνακας 2

43 δείγματα ορού ορίστηκαν με χρώση ιστολογίας

Πίνακας 2

		Ιστολογία	
		+	**-**
VIDAS	**+**	17	0
HPY	**-**	0	26

Ποσοστό Θετικής Συμφωνίας	17/17	100%
Ποσοστό Αρνητικής Συμφωνίας	26/26	100%
Συμφωνία Αποτελεσμάτων	43/43	100%

Πίνακας 3

247 δείγματα ορού αξιολογήθηκαν με ανταγωνιστική μέθοδο EIA.

Πίνακας 3

		EIA	
		+	**-**
VIDAS HPY	**+**	118	11**
	E* **	1	1
	-	2*	114

2 αμφίβολα αποτελέσματα VIDAS (δεν συμπεριλαμβάνονται στους υπολογισμούς)

Ποσοστό Θετικής Συμφωνίας	118/120	98,3%
Ποσοστό Αρνητικής Συμφωνίας	114/125	91,2%
Συμφωνία Αποτελεσμάτων	232/245	94,7%

* Δύο δείγματα ορού, θετικά με ανταγωνιστική EIA/αρνητικά με VIDAS HPY, ήταν αρνητικά με καλλιέργεια.

**Επτά δείγματα ορού, αρνητικά με ανταγωνιστική EIA/θετικά με VIDAS HPY, ήταν αρνητικά με καλλιέργεια. Ένα δείγμα ορού, αρνητικό με ανταγωνιστική EIA/θετικό με VIDAS HPY, ήταν θετικό με καλλιέργεια. Τρία δείγματα ορού, αρνητικά με ανταγωνιστική EIA/θετικά με VIDAS HPY, ήταν θετικά στην ιστολογική εξέταση.

***Ένα δείγμα ορού, θετικό με ανταγωνιστική EIA/αμφίβολο με VIDAS HPY, ήταν αρνητικό με καλλιέργεια. Ένα δείγμα ορού, αρνητικό με ανταγωνιστική EIA/αμφίβολο με VIDAS HPY, ήταν αρνητικό με καλλιέργεια.

Πίνακας 4

100 δείγματα ορού πρόσφατης συλλογής ορίστηκαν με μία άλλη μέθοδο EIA

Πίνακας 4

		EIA	
		+	-
VIDAS HPY	**+**	30	6
	E	1	0
	-	1	62

1 αμφίβολο αποτέλεσμα VIDAS (δεν συμπεριλαμβάνεται στους υπολογισμούς)

Ποσοστό Θετικής Συμφωνίας	30/31	96,8%
Ποσοστό Αρνητικής Συμφωνίας	62/68	91,2%
Συμφωνία Αποτελεσμάτων	92/99	92,9%

Τα αντιφατικά αποτελέσματα δεν αξιολογήθηκαν εκ νέου με μία άλλη μέθοδο ανίχνευσης *H. pylori*.

ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Η επαναληψιμότητα του VIDAS HPY παρουσιάσθηκε χρησιμοποιώντας μία 6-μελή ομάδα μείγματος δειγμάτων που αποτελούνται από μείγμα 2 αρνητικών, 2 ασθενώς θετικών και 2 θετικών δειγμάτων. Αυτή η ομάδα εκτελέστηκε σε τρεις διαφορετικούς τόπους. Κάθε μείγμα εκτελέστηκε 10 φορές στην ίδια σειρά ανάλυσης του οργάνου για τρεις ημέρες. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τον συνδυασμό εντός της σειράς και της συνολικής ανακρίβειας παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.

Χρησιμοποιήθηκε η τιμή εξέτασης VIDAS (TV). Ο Συντελεστής Διακύμανσης (%CV) δεν παρουσιάζεται για τα αρνητικά μείγματα, αλλά παρουσιάζεται η Πρότυπη Απόκλιση (SD) ως μέτρο διακύμανσης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σύμφωνα με την National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Πίνακας 5 (Όλοι οι Τόποι)

		Αρνητικό		Ασθενώς θετικό		Έντονα θετικό	
N		90	90	90	90	90	90
Μέση TV		0,32	0,22	1,75	1,33	9,39	5,39
Εντός της Σειράς	**SD**	0,02	0,01	0,07	0,06	0,25	0,20
	%CV	5,8	6,3	3,9	4,7	2,7	3,8
Μεταξύ	**SD**	0,05	0,02	0,08	0,08	0,44	0,78
Ημέρα	**%CV**	16,1	11,0	4,5	6,0	4,6	14,4
Συνολική ανακρίβεια	**SD**	0,05	0,12	0,25	0,21	1,67	0,78
Μεταξύ τόπων	**%CV**	NA	NA	14,2	15,5	17,8	14,4

NA= Δεν εφαρμόζεται

ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

	VIDAS HPY
R.F. +	1/18
A.N.A.+	2/14
MNI +	0/19
Γρίπη +	0/11
HSV +	1/16
Τοξοπλάσμωση IgG +	0/14
Σύφιλη +	0/10
CMV IgG +	0/12
Lupus erythematosus +	0/3

Εξετάστηκαν συνολικά 122 δείγματα αρνητικά για αντισώματα anti- *H. pylori* (χρησιμοποιώντας μία ανταγωνιστική μέθοδο EIA): 5 αμφίβολα αποτελέσματα με VIDAS HPY εξαιρέθηκαν από τον πίνακα (1 αμφίβολο RF +, 2 αμφίβολα ANA +, 1 αμφίβολο γρίπης +, 1 αμφίβολο τοξοπλάσμωσης IgG +).

ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Για να εξεταστεί η ειδικότητα της ανάλυσης, οι οργανισμοί που πρόκειται να εξεταστούν προ-επωάστηκαν με ένα μείγμα ανθρώπινου anti-*H. pylor*i θετικού ορού και εξετάστηκαν εις τριπλούν.
Οι εξεταζόμενοι οργανισμοί αναγράφονται παρακάτω και δεν εμφάνισαν μη αναμενόμενα αποτελέσματα με την ανάλυση VIDAS HPY. Ο οροθετικός ορός παρέμεινε θετικός μετά την απορρόφηση με καθένα από τους οργανισμούς με εξαίρεση το στέλεχος *H. pylori*.

Bacteroides fragilis
Borrelia burgdorferi
Campylobacter coli
Campylobacter fetus fetus
Campylobacter fetus venerealis
Campylobacter hyointestinalis
Campylobacter jejuni
Campylobacter lari
Campylobacter rectus
Candida albicans
Citrobacter freundii
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Helicobacter cinaedi
Helicobacter pylori
Klebsiella pneumoniae
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas fluorescens
Salmonella minnesota
Serratia liquefaciens
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Wolinella succinogenes
Yersinia enterocolitica

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Απορρίψτε τα χρησιμοποιημένα ή μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια καθώς και οποιαδήποτε άλλα επιμολυσμένα αναλώσιμα υλικά ακολουθώντας τις διαδικασίες για μολυσματικά ή δυνητικώς μολυσματικά προϊόντα.

Αποτελεί ευθύνη κάθε εργαστηρίου να αντιμετωπίζει τα απόβλητα και τα υγρά εκροής που παράγονται σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΩΝ

1. BUCK, G.E. 1990. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Clin. Microbiol. Rev. 3:1-12.
2. MARSHALL, B.J. and J.R. WARREN. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet I:1311-1314.
3. PETERSON, W.L. 1991. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. New England J. Med. 324(15):1043-1048.
4. BLASER, M.J. 1992. Hypothesis on the Pathogenesis and Natural History of *Helicobacter pylori*-Induced Inflammation. Gastroenterology. 102:720-727.
5. TAYLOR, D.N. and M.J. BLASER. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiol. Rev. 13:42-59.
6. MARSHALL. B.J. et al. 1988. Carbon-14 urea breath test for diagnosis of *Campylobacter pylori* associated gastritis. J. Nucl. Med. 29:11-16.
7. WILCOX, M.H. et al. 1996. Accuracy of serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection - a comparison of eight kits. J. Clin. Pathol. 49:373-376.
8. GRAHAM, D.Y. et al. 1987. *Campylobacter pylori* detected non-invasively by the C-13 urea breath test. Lancet 23:1174-1177.
9. TALLEY, N.J. et al. 1991. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. J. Clin. Microbiol. 29:1635-1639.
10. U.S. Department of Heath and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
11. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard, M29-A. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazard and /Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. NCCLS, Wayne Pa.
13. DOOLEY, C.P. et al. 1989. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. New England J. Med. 321:1562-1566.
14. GRAHAM, D.Y. et al. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology. 100:1495-1501.
15. LOFFELD, R.J., et al. 1991. The prevalence of anti-*Helicobacter (Campylobacter) pylori* antibodies in patients and healthy blood donors. J. Med. Microbiol. 32:105-109

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

Σύμβολο	Επεξήγηση
REF ή REF	Αριθμός καταλόγου
IVD	In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Κατασκευαστής
	Περιορισμοί θερμοκρασίας
	Ημερομηνία λήξης
LOT	Αριθμός Παρτίδας
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
Σ	Περιεχόμενο επαρκές για «ν» εξετάσεις

BIOMÉRIEUX

bioMérieux® sa
au capital de 11 879 045 €
673 620 399 RCS LYON

69280 Marcy-l'Etoile / France
Τηλ. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

Εκτυπώθηκε στη Γαλλία

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY)

IVD

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY) är ett automatiserat kvalitativt test för användning med VIDAS-instrument för detektering av anti-*Helicobacter pylori* IgG-antikroppar i humanserum eller -plasma (EDTA) med hjälp av ELFA-teknik (Enzyme Linked Fluorescent Assay) VIDAS® HPY-analysen är avsedd som ett hjälpmedel vid diagnostisering av *H. pylori*-infektion i en vuxen symptomatisk population.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Det har visats att infektion av *Helicobacter* (tidigare *Campylobacter*) *pylori*, en spiralformad mikroaerofil stav, orsakar inflammation i magens slemhinnor (gastrit) och hos vissa infekterade personer, magsår. Infektionen kan också spela en roll i utveckling av magcancer (1, 2, 3). Symptomatiska patienter med *H. pylori* anses infekterade medan asymptomatiska personer med *H. pylori* anses som koloniserade. Många personer som är koloniserade med *H. pylori* utvecklar aldrig magsår och fortsätter vara asymptomatiska trots kolonisation sedan flera år, troligen årtionden (4, 5).

Det finns invasiva och icke-invasiva metoder för att påvisa *H. pylori*. Endoskopisk biopsi har traditionellt använts för att erhålla vävnadsprover från mage och tolvfingertarm för efterföljande färgning, odling och/eller direkt detektering av ureas.

Med biopsi kan falskt negativa resultat inträffa för infekterade individer på grund av ojämn distribution av *H. pylori* i provet eller att vävnaden innehåller livsodugliga eller icke-ureasbildande *H. pylori* (6). Invasiva metoder som endoskopi involverar också obekvämlighet för patienter, risk och är dyra att utföra.

Icke-invasiva metoder inkluderar andningsprov för urinämne och serologiska metoder. Andningsprov för urinämne detekterar *H. pylori*-förekomst via dess högaktiva ureas. Urinämne märkt med kol-14 eller kol-13 sväljs av patienten och förekomst av utandad koldioxid bestäms via skintillation eller masspektrometri. Patientens exponering för radioisotoper och dyr utrustning är nackdelar för andningstest för urinämne (6, 7, 8).

Patienter som är infekterade med *H. pylori* utvecklar serumantikroppar som hänger samman med förekomst av histologiskt konfirmerad *H. pylori*-infektion.

Serologiska metoder (som enzymatiska immunanalyser) är icke-invasiva, billiga, snabba, lätta att utföra och den största fördelen är att serologiska metoder, jämförda med invasiva metoder, inte är beroende av noggrannhet vid provtagningen (7, 9).

METOD

Analysprincipen kombinerar en tvåstegs enzymatisk immunanalys av sandwichtyp med en slutlig fluorescensdetektering (ELFA). Alla analyssteg och analystemperaturer kontrolleras automatiskt av instrumentet. Fastfasbehållaren (SPR) fungerar både som fastfas och pipett för analysen. Reagenserna för analysen är färdiga för bruk och i förväg doserade i de förseglade reagensstripsen.

Efter preliminära tvätt- och provspädningssteg, förs provet cykliskt in i och ut ur SPR under en specificerad tidsperiod. IgG-antikroppar mot *H. pylori* som finns i provet kommer att bindas till *H. pylori*-antigen belagda på insidan av SPR. Obundna provkomponenter tvättas bort.

Anti-humana IgG-antikroppar konjugerade med alkaliskt fosfatas cirkuleras in i och ut ur SPR och kommer att bindas till humana IgG bundna till SPR-väggen. Obundet anti-human-antikroppskonjugat avlägsnas under det slutliga tvättningssteget.

Under det sista steget i detekteringen förs substratet (4-metylumbelliferylfosfat) cykliskt in i och ut ur SPR. Det konjugerade enzymet katalyserar substratets hydrolys till en fluorescerande produkt (4-metylumbelliferon), vars fluorescens mäts vid 450 nm. Intensiteten av fluorescensen mäts av den optiska scannern i VIDAS-instrumentet. När analysen är färdig analyseras resultaten automatiskt av instrumentet, ett testvärde genereras och en rapport skrivs ut för varje prov.

KITETS INNEHÅLL (30 TESTER):

30 HPY-strips	STR	Färdiga att använda.
30 HPY-SPR (1 x 30)	SPR	Färdiga att använda. Insidan av SPR belagd med renat *H. pylori*-antigen.
HPY standard (1 x 2 ml)	S1	Färdig att använda. Humanserum* innehållande anti-*H. pylori*-antikroppar + 1 g/l natriumazid. Intervallet anges i ”relativt fluorescensvärde” (RFV) på MLE-kortet på följande sätt : "Standard (S1) RFV Range".
HPY positiv kontroll (1 x 1,5 ml)	C1	Färdig att använda. Humanserum* innehållande anti-*H. pylori*-antikroppar + 1 g/l natriumazid. Konfidensintervallet ”testvärdet” (TV) är angivet på MLE-kortet på följande sätt : "Control C1 Test Value Range".
HPY negativ kontroll (1 x 1,5 ml)	C2	Färdig att använda. Humanserum* innehållande anti-*H. pylori*-antikroppar + 1 g/l natriumazid. Konfidensintervallet ”testvärdet” (TV) är angivet på MLE-kortet på följande sätt : "Control C2 Test Value Range".
1 MLE-kort		Specifikationskort med tillverkarens baskalibreringsdata som krävs för att kalibrera testet.
1 bipacksedel		

* Denna produkt har testats och visat sig vara negativ för HBs-ytantigen och antikroppar mot HIV1, HIV2 samt HCV. Denna produkt måste ändå behandlas som potentiellt infektiös eftersom ingen känd testmetod kan garantera total frånvaro av dessa smittämnen. Därför bör sedvanliga säkerhetsåtgärder iakttas vid användning.

BESKRIVNING

Varje VIDAS® HPY-test kräver ett HPY-reagensstrips och en HPY-SPR.

SPR

Vid tillverkningen har SPR invändigt belagts med renade *H. pylori*-antigener. Varje SPR identifieras av HPY-koden. Ta inte ut fler SPR ur påsen än vad som behövs och **återförslut påsen korrekt när den varit öppen.**

Reagensstripset

Stripset består av 10 brunnar täckta med en märkt förslutning av folie. Märkningen består av en sifferkod som visar analyskoden, kitets batchnummer och sista förbrukningsdatum. Folien över den första brunnen är perforerad för att underlätta provsättningen. Den sista brunnen på varje strips är en kyvett, där den fluorimetriska avläsningen utförs. Brunnarna i stripsets mittdel innehåller de olika reagenser som analysen kräver.

Beskrivning av stripset

Brunnar	Reagenser
1	Provbrunn.
2	Provspädningsvätska: TRIS-buffrad koksaltlösning (0,05 mol/l, pH 7,4) + proteinstabilisatorer + 1 g/l natriumazid (600 µl).
3	Förtvättsbuffert: TRIS-buffrad koksaltlösning (0,05 mol/l, pH 7,4) + proteinstabilisatorer + 1 g/l natriumazid (400 µl).
4 - 5 - 7	Tvättbuffert: TRIS-buffrad koksaltlösning (0,05 mol/l) + rengöringsmedel + 1g/l natriumazid (600 µl).
6	Konjugat: en titrerad blandning av alkaliskt fosfatasmärkt monoklonal anti-human mus-IgG + 1 g/l natriumazid (400 µl).
8	Tvättbuffert: DEA-buffert (360 mmol/l) + 1g/l natriumazid (600 µl).
9	Provspädningsvätska: TRIS-buffert (0,05 mol/l, pH 7,4) + proteinstabilisatorer + 1 g/l natriumazid (300 µl).
10	Kyvett med substrat: 4-metylumbelliferylfosfat (0,6 mmol/l) + dietanolamin DEA* (0,62 mol/l eller 6,6%) pH 9,2 + 1 g/l natriumazid (300 µl).

*** IRRITERANDE reagens:**
- **R 36:** Irriterar ögonen.
- **S 26:** Vid kontakt med ögonen, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare.

För ytterligare information, se säkerhetsföreskrifterna. Dessa kan erhållas på begäran.

NÖDVÄNDIGT MATERIEL (SOM INTE MEDFÖLJER)

- Pipett med engångsspets kalibrerad för att dosera 100 µl.
- Opudrade engångshandskar.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- **Endast för *in vitro*-diagnostik.**
- **Endast för professionell användning.**
- **Detta kit innehåller produkter av humant ursprung. Ingen känd analys kan garantera total frånvaro av överförbara patogena agens. Det rekommenderas därför att dessa produkter behandlas som potentiellt infektiösa och att de handhas enligt allmänna säkerhetsföreskrifter. (se Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - senaste upplagan).**
- Detta kit innehåller produkter av animaliskt ursprung. Certifierade data angående ursprunget och/eller hälsotillståndet hos djuren garanterar inte total frånvaro av överförbara patogena agens. Det rekommenderas därför att dessa produkter behandlas som potentiellt infektiösa och att de handhas med sedvanliga försiktighetsåtgärder (får inte förtäras eller inandas).
- Behandla alla patientprover som potentiellt infektiösa och uppmärksamma rutinmässiga biosäkerhetsåtgärder. Kassera alla använda komponenter och annat kontaminerat material med godkända procedurer för potentiellt biofarliga humana blodprodukter (10-12).
- Använd inte SPR med skadad påse.
- Använd inte synbart försämrad STR (skadad folie eller plast).
- Använd inga reagenser efter sista förbrukningsdatum som anges på etiketten.
- Blanda inte reagenser (eller engångsartiklar) från olika batcher.
- Använd **opudrade** engångshandskar, eftersom det finns fall rapporterade där puder ska ha orsakat felaktiga resultat för vissa enzymimmunanalyser.
- Reagenserna i kitet innehåller natriumazid, vilket kan reagera med bly eller koppar i ledningsrör och bilda explosiva metallazider. Om någon vätska innehållande natriumazid skulle komma ut i avloppssystemet, ska avloppet spolas med vatten för att förebygga en ackumulation.
- Substratet i brunn 10 innehåller ett irriterande ämne (6,6% dietanolamin). Se vidare om risker ”R” och säkerhetsåtgärder ”S” ovan.

- Utspillt material ska torkas upp noggrant efter tillförsel av flytande rengöringsmedel och en lösning av hushållsblekmedel innehållande minst 0,5 % natriumhypoklorit. För att tvätta upp spill på eller i instrumentet, se användarmanualen. Autoklavera inte lösningar som innehåller blekmedel.
- VIDAS- och mini-VIDAS-instrumenten bör rengöras och dekontamineras regelbundet (se i användarmanualen).

FÖRVARING

- Förvara VIDAS HPY-kitet vid 2-8°C.
- **Frys inte reagenserna.**
- **Förvara alla oanvända reagenser vid 2-8°C.**
- När kitet har öppnats, kontrollera att SPR-påsen är korrekt försluten och oskadad. Om den är skadad, ska SPR inte användas.
- **Efter användning ska påsen med torkmedel återförslutas för att hålla SPR stabila. Kitet förvaras åter vid 2-8°C.**
- Vid förvaring enligt rekommendationerna är alla komponenter stabila fram till det utgångsdatum som anges på etiketten.

PROVER

Provtyp och provtagning:

VIDAS HPY-test bör utföras med sera eller plasma (EDTA) som inte får vara hemolyserade eller kontaminerade.
Värm inte serum. Klargör prover med partikelmaterial genom centrifugering eller filtrering före testning.

Även om data inte påvisar någon interferens med hemoglobin (500 mg/dl), lipider (2,0 mg/ml) eller bilirubin (30 mg/dl) rekommenderas inte användning av hemolyserade, ikteriska eller lipemiska prov. Om möjligt bör ett nytt prov tas.

Provstabilitet

Om ett prov inte kan testas på provtagningsdagen, förvara vid 2-8°C i upp till fem dagar. Om längre förvaring behövs, frys ned vid -25 ± 6°C i upp till två månader. Överskrid inte över två nedfrysnings- och upptiningscykler. Testa inte prov med tydlig mikrobiell kontamination.

BRUKSANVISNING

För fullständiga instruktioner se VIDAS' eller mini-VIDAS' användarmanual.

Inmatning av batchens basdata

Innan varje ny reagensbatch används måste specifik data (företagets baskalibreringskurva) föras in i instrumentet (VIDAS eller mini-VIDAS) genom att använda "master lot entry" (MLE)-kortet (specifikationskort) som medföljer varje kit. Om detta inte görs **innan analysen påbörjas**, kommer instrumentet inte att kunna skriva ut resultaten. Batchens basdata behöver bara föras in en gång för varje batch.
Man kan föra in data automatiskt med hjälp av MLE-kortet, eller manuellt.

Kalibrering

Kalibrering med användning av standarden i kitet måste utföras varje gång en ny batch reagenser öppnas efter att basdata har matats in. Kalibrering skall sedan ske varannan vecka. Detta förfarande ger instrumentspecifika kalibreringskurvor och kompenserar för tänkbara mindre variationer i analyssignalen under kitets livstid.
Standarden, som identifieras med S1, måste testas **dubbelt** (se användarmanualen). Standardvärdet måste ligga inom intervallet för det bestämda RFV (relativa fluorescensvärdet). Om så inte blir fallet, måste omkalibrering ske.

Utförande

1. **Ta inte ut fler reagenser än nödvändigt från kylen, och låt dem uppnå rumstemperatur under minst 30 minuter.**
2. Använd ett ”HPY”-strips och en ”HPY”-SPR för varje prov, kontroll eller standard som ska testas. **Se till att förvaringspåsen har återförslutits sedan SPR har tagits ut.**
3. Skriv in eller välj ”HPY” för att mata in testkoden. Standarden ska identifieras med "S1", och testas **dubbelt**. Om den positiva kontrollen ska testas, ska den identifieras med "C1". Om den negativa kontrollen behövs testas, ska den identifieras med ”C2”.
4. Blanda standarden, kontroller och prover med hjälp av en virvelblandare.
5. Pipettera **100 µl** standard, prov eller kontroll i provbrunnen.
   (**OBS**: Undersök möjlig förekomst av bubblor i provbrunnar efter pipettering och knacka försiktigt för att ta bort om det finns några.)
6. Sätt in SPR och strips i instrumentet. Kontrollera för säkerhets skull att färgetiketterna med analyskoderna på SPR och reagensstrips överensstämmer.
7. Påbörja analysen enligt användarmanualen. Alla analyssteg utförs automatiskt av instrumentet. Analysförloppet är fullbordat inom ungefär 35 minuter.
8. Efter slutförd analys tas SPR och strips ut ur instrumentet.
9. Kasta använda SPR och strips i en lämplig avfallsbehållare.

RESULTAT

När analysen är klar, analyseras resultaten automatiskt av datorn. Fluorescensen mäts två gånger i reagensstripsets avläsningskyvett för varje prov som testas. Den första avläsningen mäter bakgrundsvärdet för substratkyvetten, innan SPR förs ner i substratet. Den andra avläsningen sker sedan substratet inkuberats med enzymet som finns kvar invändigt i SPR. RFV (relativa fluorescensvärdet) beräknas genom att bakgrundsvärdet subtraheras från det slutliga resultatet.

TV = Testvärde = patientens RFV / standard-RFV

Testvärdet jämförs sedan med gränsvärden lagrade av instrumentet och ett slutligt resultat tolkas.

Tolkning av testresultat baseras på testvärdet enligt följande:
Resultat med testvärden lägre än det lägre gränsvärdet visar att patienten inte har detekterbara antikroppar mot anti-*H. pylori*.

Gränsvärden och tolkning av resultat

Gränsvärde för testvärde	Tolkning
TV < 0,75	Negativt
0,75 ≤ TV < 1,00	Osäkert
TV ≥ 1,00	Positivt

En rapport skrivs ut med följande noteringar:
- typen av test som utförts,
- prov-ID,
- datum och tid,
- batchnummer och sista förbrukningsdatum för det reagenskit som används,
- RFV, testvärdet och det tolkade resultatet för varje prov.

Ofullständigheten förbunden med varje metod medför en konfidensbrist för prov med testvärden som ligger väldigt nära gränsvärdena. Därför fastställs en osäker zon mellan gränsvärdena baserad på en statistisk förståelse för denna ofullständighet.
Prover med testvärden som är högre än eller lika med det höga gränsvärdet tolkas som positiva.
Prover med testvärden mellan 0,75 och 1,00 bör köras om med det ursprungliga provet, om tillgängligt. Om det ursprungliga provet inte är tillgängligt, ta ett färskt prov och upprepa analysen.
Om provet fortfarande är osäkert bör klinisk information och andra tillgängliga laboratorietest tas med i beräkningen.
Ogiltiga resultat rapporteras när bakgrundsavläsningen ligger över det förutbestämda gränsvärdet (visar låg substratkontamination). Upprepa analysen med det ursprungliga provet i detta fall.
Ett ogiltigt resultat visas också om det inte finns någon standard tillgänglig för batchnumret på teststripset. Kör i detta fall en standard dubbelt med HPY-strips med samma batchnummer som det ogiltiga patienttestet. Testresultatet kan sedan räknas om med den nya lagrade standarden.
(Se användarmanualen för en detaljerad förklaring).

KVALITETSKONTROLL

I varje VIDAS HPY-kit ingår en positiv och en negativ kontroll.
Dessa kontroller måste utföras omedelbart sedan ett nytt kit har öppnats för att säkerställa att reagensets prestanda inte har förändrats. Varje kalibrering måste också kontrolleras med dessa kontroller. Instrumentet kommer bara att kunna validera kontrollvärdena om de identifieras som C1 och C2. De positiva och negativa kontrollerna måste testas enligt god laboratoriesed.
Resultaten kan inte valideras om kontrollvärdena avviker från de förväntade värdena.
Det förväntade intervallet för kitets standardvärden matas in i VIDAS-systemet via MLE-kortet. Standardvärden utanför intervallet larmas som ogiltiga och systemet kan inte beräkna kontroll- och patient-RFV och testvärde (TV).

Obs

Det är användarens ansvar att utföra kvalitetskontroll i enlighet med lokalt tillämpliga bestämmelser.

METODENS BEGRÄNSNINGAR

1. VIDAS HPY-analysen bör endast användas för att utvärdera patienter med kliniska tecken och symptom på gastroduodenal sjukdom och är inte avsedd för användning för asymptomatiska patienter.
2. Som med alla diagnostiska test bör VIDAS HPY IgG-testet tolkas tillsammans med andra laboratorie- och kliniska data som är tillgängliga för en kliniker.
3. Ett positivt HPY-analysresultat skiljer inte mellan aktiv infektion och kolonisation av *H. pylori*.
4. Ett positivt HPY-analysresultat påvisar endast förekomst av IgG-antikroppar mot *H. pylori* och påvisar inte nödvändigtvis att gastroduodenal sjukdom förekommer.
5. Ett negativt HPY-analysresultat påvisar antingen att det inte finns IgG-antikroppar mot *H. pylori* eller att de ligger på en nivå som inte är detekterbar med HPY-analysen.
6. Prestanda har inte visats för övervakning av effekterna av antimikrobiell behandling mot *H. pylori*.
7. Analysen har inte fastställts för patienter under 18 års ålder.
8. Interferens kan förekomma med vissa sera som innehåller antikroppar riktade mot beståndsdelar i reagenset. Därför bör tolkning av testresultaten göras med hänsyn tagen till patientens anamnes och resultaten av andra utförda tester.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

H. pylori-infektion finns över hela världen men geografisk distribution av förekomst varierar mycket. Den är alltid högre i utvecklingsländer (70-90 %) än i industrialiserade länder (20-30 %); högre förekomst associeras med låga socio-ekonomiska nivåer. I vita populationer i USA och andra industrialiserade länder är *H. pylori*-infektion inte vanlig i barndomen men förekomsten stiger med 0,5-2 % för varje år och når c:a 50 % hos de som är 60 år eller äldre. Graderna av förekomst är högre hos färgade och latinamerikaner än hos vita (13, 14). Frekvensen av *H. pylori*-infektion hos patienter diagnostiserade med duodenalt magsår är c:a 80 % i alla åldersgrupper (15).

I en slumpmässig population på 200 personer testades till synes friska blodgivare med VIDAS HPY. Positivitetsgraden var 27,5 % med en osäkerhetsgrad på 5,5 %.
Förväntade värden för en given population bör bestämmas för varje laboratorium. Positivitetsgraden för ett test kan variera beroende på faktorer som geografisk lokalisering, ålder, kön hos den studerade populationen, tid på året, provtagning och hanteringsförfarande, etc.

PRESTANDA

Totalt 247 frusna serumprov och 100 nyligen tagna serumprov användes för att utvärdera VIDAS HPY-analysens känslighet och specificitet.

204 frusna serumprov karakteriserades väl med odling. 99 prov ansågs negativa för *H. pylori* och 105 prov ansågs positiva.

43 frusna serumprov definierades med histologi. 26 prov ansågs negativa och 17 prov ansågs positiva.

Samma 247 frusna serumprov och 100 nyligen tagna serumprov utvärderades också med en konkurrerande EIA-metod.

Tabell 1

204 odlingsdefinierade serumprov

Tabell 1

		Odling	
		+	**-**
VIDAS	**+**	103	9
	E	0	1
HPY	**-**	2	89

1 VIDAS-osäker (ingår inte i beräkningar)

Klinisk sensitivitet 98,10%
95 % CI 93,12% - 99,77%

Klinisk specificitet 90,82%
95 % CI 83,28% - 95,71%
CI: Konfidensintervall

Tabell 2

43 histologifärgningsdefinierade serumprov

Tabell 2

		Histologi	
		+	**-**
VIDAS	**+**	17	0
HPY	**-**	0	26

Procentandel positiv överensstämmelse 17/17 100 %
Procentandel negativ överensstämmelse 26/26 100 %
Överensstämmelse av resultat … 43/43 100 %

Tabell 3

247 serumprov utvärderade med en konkurrerande EIA-metod.

Tabell 3

		EIA	
		+	**-**
VIDAS	**+**	118	11**
	E* **	1	1
HPY	**-**	2*	114

2 VIDAS-osäkra (ingår inte i beräkningar)

Procentandel positiv överensstämmelse 118/120 98,3 %
Procentandel negativ överensstämmelse 114/125 91,2 %
Överensstämmelse av resultat 232/245 94,7 %

* Två serumprov, konkurrerande EIA-positiva/VIDAS HPY-negativa, var negativa med odling.

**Sju serumprov, konkurrerande EIA-negativa/VIDAS HPY-positiva, var negativa med odling. Ett serumprov, konkurrerande EIA-negativt/VIDAS HPY-positivt, var positivt med odling. Tre serumprov, konkurrerande EIA-negativa/VIDAS HPY-positiva, var positiva med histologi.

***Ett serumprov, konkurrerande EIA-positivt/VIDAS HPY-osäkert, var negativt med odling. Ett serumprov, konkurrerande EIA-negativt/VIDAS HPY-osäkert, var negativt med odling.

Tabell 4

100 nyligen tagna serumprov definierade med en annan EIA-metod

Tabell 4

		EIA	
		+	-
VIDAS	**+**	30	6
	E	1	0
HPY	**-**	1	62

1 VIDAS-osäker (ingår inte i beräkningar)
Procentandel positiv överensstämmelse 30/31 96,8 %
Procentandel negativ överensstämmelse 62/68 91,2 %
Överensstämmelse av resultat 92/99 92,9 %

Avvikande resultat utvärderades inte igen med en annan *H. pylori*-detekteringsmetod.

REPRODUCERBARHET

Reproducerbarheten för VIDAS HPY visades med en panel med sex poolade prov, bestående av två negativa, två lågt positiva och två positiva pooler. Panelen kördes på tre platser. Varje pool kördes tio gånger under en instrumentkörning under tre dagar. Resultaten av kombinerad inom körning- och total ofullständighet visas i tabell 5.

VIDAS-testvärdet (TV) användes. Variationskoefficienten (%CV) presenteras inte för negativa pooler, istället presenteras standardavvikelsen (SD) som ett mått på variation. Resultaten presenteras i enlighet med National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Tabell 5 (Alla platser)

		Negativt		Lågt positivt		Högt positivt	
N		90	90	90	90	90	90
Medel-TV		0,32	0,22	1,75	1,33	9,39	5,39
Inom körning	**SD**	0,02	0,01	0,07	0,06	0,25	0,20
	% CV	5,8	6,3	3,9	4,7	2,7	3,8
Mellan dagar	**SD**	0,05	0,02	0,08	0,08	0,44	0,78
	% CV	16,1	11,0	4,5	6,0	4,6	14,4
Total ofullständighet	**SD**	0,05	0,12	0,25	0,21	1,67	0,78
Mellan platser	**% CV**	NA	NA	14,2	15,5	17,8	14,4

NA=Inte tillämpligt

KORSREAKTIVITET

	VIDAS HPY
R.F. +	1/18
A.N.A.+	2/14
MNI +	0/19
Influensa +	0/11
HSV +	1/16
Toxoplasmos-IgG +	0/14
Syfilis +	0/10
CMV-IgG +	0/12
Lupus erytematosus +	0/3

Totalt 122 prov som var negativa för anti-*H. pylori*-antikroppar (med konkurrerande EIA-metod) testades: Fem osäkra VIDAS HPY-resultat uteslöts från tabellen (1 osäker-RF +, 2 osäkra-ANA +, 1 osäker-influensa +, 1 osäker-toxoplasmos-IgG +).

ANALYSSPECIFICITET

Testorganismer förinkuberades i en pool av humant anti-*H. pylori*-positivt serum och testades dubbelt för test av analysspecificitet.
Testade organismer finns nedan och de visade inga oförväntade resultat med VIDAS HPY-analysen. Det seropositiva serumet var fortfarande positivt efter absorption med varje organism med undantag för *H. pylori*-stam.

Bacteroides fragilis
Borrelia burgdorferi
Campylobacter coli
Campylobacter fetus fetus
Campylobacter fetus venerealis
Campylobacter hyointestinalis
Campylobacter jejuni
Campylobacter lari
Campylobacter rectus
Candida albicans
Citrobacter freundii
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Helicobacter cinaedi
Helicobacter pylori
Klebsiella pneumoniae
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas fluorescens
Salmonella minnesota
Serratia liquefaciens
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Wolinella succinogenes
Yersinia enterocolitica

AVFALLSHANTERING

Avfallshantering av använda eller oanvända reagenser, liksom av andra kontaminerade engångsmaterial, ska ske i enlighet med procedurer för infektiösa eller potentiellt infektiösa produkter.
Det är varje laboratoriums ansvar att handha avfalls- och avloppsprodukter enligt typ och farlighetsgrad och behandla och avlägsna dem (eller få dem behandlade och avlägsnade) i enlighet med alla tillämpliga föreskrifter.

REFERENSLITTERATUR

1. BUCK, G.E. 1990. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Clin. Microbiol. Rev. 3:1-12.
2. MARSHALL, B.J. and J.R. WARREN. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet I:1311-1314.
3. PETERSON, W.L. 1991. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. New England J. Med. 324(15):1043-1048.
4. BLASER, M.J. 1992. Hypothesis on the Pathogenesis and Natural History of *Helicobacter pylori*-Induced Inflammation. Gastroenterology. 102:720-727.
5. TAYLOR, D.N. and M.J. BLASER. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiol. Rev. 13:42-59.
6. MARSHALL. B.J. et al. 1988. Carbon-14 urea breath test for diagnosis of *Campylobacter pylori* associated gastritis. J. Nucl. Med. 29:11-16.
7. WILCOX, M.H. et al. 1996. Accuracy of serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection - a comparison of eight kits. J. Clin. Pathol. 49:373-376.
8. GRAHAM, D.Y. et al. 1987. *Campylobacter pylori* detected non-invasively by the C-13 urea breath test. Lancet 23:1174-1177.
9. TALLEY, N.J. et al. 1991. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. J. Clin. Microbiol. 29:1635-1639.
10. U.S. Department of Heath and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
11. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard, M29-A. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazard and /Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. NCCLS, Wayne Pa.
13. DOOLEY, C.P. et al. 1989. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. New England J. Med. 321:1562-1566.
14. GRAHAM, D.Y. et al. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology. 100:1495-1501.
15. LOFFELD, R.J., et al. 1991. The prevalence of anti-*Helicobacter (Campylobacter) pylori* antibodies in patients and healthy blood donors. J. Med. Microbiol. 32:105-109.

SYMBOLER

Symbol	Betydelse
REF eller REF	Artikelnummer
IVD	Medicinsk utrustning för in vitro-diagnostik
	Tillverkad av
	Temperaturbegränsning
	Används före
LOT	Batchnummer
	Se bruksanvisningarna
Σ	Innehållet räcker till <n> tester

BIOMÉRIEUX

bioMérieux® sa
au capital de 11 879 045 €
673 620 399 RCS LYON

69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
http://www.biomerieux.com

CE
Tryckt i Frankrike

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY)

IVD

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY) er en automatiseret kvalitativ test til brug med VIDAS-instrumenterne til detektion af anti-*Helicobacter pylori* IgG antistoffer i humant serum eller plasma (EDTA) ved hjælp af ELFA-teknikken (Enzyme Linked Fluorescent Assay). VIDAS® HPY -analysen er tænkt som hjælp til diagnosticering af *H. pylori* infektion i en voksen, symptomatisk population.

RESUMÉ OG FORKLARING

Det er påvist, at infektion med *Helicobacter* (tidligere *Campylobacter*) *pylori*, en spiralformet mikroaerofil bacille, medfører inflammation af mavesækkens slimhinde (gastritis) og hos visse smittede personer ulcus. Infektionen kan også spille en rolle for udvikling af cancer i mavesækken (1, 2, 3). Symptomatiske patienter med *H. pylori* betragtes som smittede, mens asymptomatiske personer med *H. pylori* betragtes som koloniserede. De fleste mennesker, der er koloniseret med *H. pylori,* udvikler aldrig sår og forbliver asymptomatiske i årevis til trods for koloniseringen, sandsynligvis i et tocifret antal år (4, 5).

Der findes invasive og non-invasive metoder til bestemmelse af tilstedeværelse af *H. pylori*. Biopsi ved endoskopi har traditionelt været anvendt for at udtage gastriske eller duodenale vævsprøver til efterfølgende farvnings-, dyrknings-og/eller direkte urease-detektion.

Ved biopsi kan der forekomme falsk negative resultater hos smittede personer på grund af uensartet fordeling af *H. pylori* i prøven eller ved udtagning af væv med ikke-anvendelig eller ikke-ureasedannende *H. pylori* (6). Desuden medfører invasive metoder som endoskopi ubehag og risiko for patienten, og de er dyre at foretage.

Non-invasive metoder omfatter urea-åndedrætstests og serologiske metoder. Urea-åndedrætstests detekterer tilstedeværelse af *H. pylori* via dens stærkt aktive urease. Urea mærket med kulstof-14 eller kulstof-13 indtages af patienten, og tilstedeværelse af udåndet kuldioxid bestemmes via scintillation eller massespektrometri. Patienteksponering med radioisotoper og dyrt udstyr er ulemperne ved urea-åndedrætstestning (6, 7, 8).

Patienter, der er smittet med *H. pylori,* udvikler serum-antistoffer, som er korreleret med tilstedeværelsen af histologisk bekræftet *H. pylori*-infektion.

Serologiske metoder (så som enzymimmunanalyse) er non-invasive, økonomiske, hurtige at foretage, og sammenlignet med invasive metoder er den største fordel, at serologiske metoder ikke er afhængige af prøveudtagningsnøjagtigheden (7, 9).

PRINCIP

Analyseprincippet kombinerer en 2-trins enzym-immunanalyse (sandwichmetode) med en afsluttende fluorescensdetektion (ELFA). Alle trin i analysen og analysetemperaturen kontrolleres automatisk af instrumentet. Fast-fase-beholderen (Solid Phase Receptacle (SPR) tjener både som fast fase og som pipetteringsudstyr for analysen. Reagenserne til analysen er brugsklare og prædispenserede i de forseglede reagensstrips.

Efter indledende vaske- og fortyndingstrin føres prøven cyklisk ind og ud af SPR'en i et specificeret tidsrum. IgG-antistoffer mod *H. pylori* i prøven vil bindes til det *H. pylori* -antigen, der coater indersiden af SPR'en. Ikke-bundne prøvekomponenter skylles bort.

Anti-humane IgG-antistoffer konjugeret med alkalisk fosfatase drives cyklisk ind og ud af SPR'en og vil binde sig til et hvilket som helst humant IgG, der er bundet til SPR-væggen. Et afsluttende vasketrin fjerner ubundet anti-humant antistofkonjugat.

Under det sidste detektionstrin føres substrat (4-Methyl-umbelliferylfosfat) cyklisk ind i og ud af SPR'en. Konjugatet katalyserer enzymatisk hydrolysen af dette substrat til et fluorescerende produkt (4-Methyl-umbelliferon), hvis fluorescens måles ved 450 nm. Intensiteten af fluorescensen måles i den optiske scanner i VIDAS-instrumentet. I slutningen af analysen beregnes resultaterne automatisk af instrumentet, der genereres en testværdi, og der udskrives en rapport for hver prøve.

KITTETS INDHOLD (30 PRØVER):

30 HPY-strips	STR	Brugsklar.
30 HPY SPRs (1 x 30)	SPR	Brugsklar. Det indre af SPR belagt med renset *H. pylori* -antigen.
HPY standard (1 x 2 ml)	S1	Brugsklar. Humant* serum indeholdende anti-*H. pylori* –antistoffer + 1 g/l natriumazid. Konfidensintervallet i "Relativ Fluoresence Value" er beskrevet på MLE kortet efter følgende meddelelse : "Standard (S1) RFV Range".
HPY Positiv kontrol (1 x 1,5 ml)	C1	Brugsklar. Humant* serum indeholdende anti-*H. pylori* –antistoffer + 1 g/l natriumazid. Konfidensintervallet "Testværdi" (TV) er beskrevet på MLE kortet efter følgende meddelelse : "Control C1 Test Value Range".
HPY Negativ kontrol (1 x 1,5 ml)	C2	Brugsklar. Humant* serum uden anti-*H. pylori* –antistoffer + 1 g/l natriumazid. Konfidensintervallet "Testværdi" (TV) er beskrevet på MLE kortet efter følgende meddelelse : "Control C2 Test Value Range".
1 MLE kort.		Specifikationsark med de kalibreringsdata fra producenten, der er nødvendige til kalibrering af testen.
1 Indlægsseddel		

* Produktet er testet og fundet negativt for HBs-overfladeantigen, antistoffer mod HIV1, HIV 2 og HCV. Alligevel skal produktet behandles som potentielt smittefarligt, da ingen eksisterende test med absolut sikkerhed kan garantere at de ikke er til stede. Derfor skal sædvanlige sikkerhedsprocedurer iagttages under håndteringen.

BESKRIVELSE

Hver VIDAS® HPY test kræver en HPY Reagensstrip og en HPY SPR.

SPR

Det indre af SPR'en bliver under fremstillingen coatet med rensede *H. pylori* -antigener. Hver SPR identificeres ved hjælp af HPY-koden. Tag kun det ønskede antal SPRer ud fra posen og **forsegl posen korrekt igen efter åbning**.

Strip

Hver strip består af 10 brønde dækket med en folieforsegling med mærkat. Mærkaten består af en stregkode, som hovedsagelig angiver analysekoden, kittets lotnummer og udløbsdato. Folien over den første brønd er perforeret for at gøre det lettere at indføre prøven. Den sidste brønd i hver strip er en kuvette, hvori den fluorometriske aflæsning foregår. Brøndene i den centrale del af strip'en rummer reagenser til analysen.

Beskrivelse af strip'en

Brønde	Reagenser
1	Prøvebrønd.
2	Prøvediluent: TRIS bufret saltvand (0,05 mol/l) pH 7,4 +proteinstabilisatorer + 1 g/l natriumazid (600 µl).
3	Buffer til indledende vask: TRIS bufret saltvand (0,05 mol/l) pH 7,4 + proteinstabilisatorer + 1g/l natriumazid (400 µl).
4 - 5 - 7	Vaskebuffer: TRIS pufret saltvand (0,05 mol/l) + detergent + 1g/l natriumazid (600 µl).
6	Konjugat: En titreret blanding af alkalisk fosfatase-mærkede monoklonale anti-humane IgG antistoffer (mus-) +1 g/l natriumazid (400 µl).
8	Vaskebuffer: DEA buffer (360 mmol/l) + 1g/l natriumazid (600 µl).
9	Prøvediluent: TRIS buffer (0,05 mol/l) pH 7,4 +proteinstabilisatorer + 1g/l natriumazid (300 µl).
10	Kuvette med substrat: 4-Methyl-umbelliferylfosfat (0,6 mmol/l) + diætanolamin DEA* (0,62 mol/l eller 6,6%) pH 9,2 + 1 g/l natriumazid (300 µl).

*** IRRITERENDE reagens:**
- **R 36 :** Irriterer øjnene.
  S 26: Kommer stoffet i øjnene, skylles der straks grundigt med vand, og læge kontaktes.

For yderligere information henvises til Sikkerhedsdatabladet, der kan rekvireres.

NØDVENDIGE MEN IKKE MEDFØLGENDE MATERIALER

- Pipette med engangsspids kalibreret til at afgive 100 µl.
- Pudder-frie engangshandsker.

ADVARSLER OG FORSIGTIGHEDSREGLER

- **Kun til *in vitro*-diagnostisk anvendelse.**
- **Kun til professionel brug.**
- **Dette kit indeholder produkter af human oprindelse. Ingen kendt analysemetode kan garantere fuldt ud, at der ikke er overførbare patogene stoffer til stede. Det anbefales derfor, at disse produkter behandles som potentielt smittefarlige og håndteres med de normale sikkerhedsforanstaltninger (se Laboratory biosafety manual – WHO - Geneva – Seneste udgivelse).**
- Dette kit indeholder produkter af animalsk oprindelse. Certificeret kendskab til dyrenes oprindelse og/eller sundhedstilstand er ikke nogen fuldgyldig garanti for, at der ikke er indeholdt nogen overførbare patogene stoffer. Det anbefales derfor, at disse produkter behandles som potentielt smittefarlige og håndteres under iagttagelse af de normale sikkerhedsforanstaltninger (må ikke indtages eller indåndes).
- Alle patientprøver skal betragtes som potentielt smittefarlige, og rutinemæssige miljøsikkerhedsforanstaltninger skal overholdes. Bortskaf alle brugte og ubrugte komponenter og andre kontaminerede materialer med acceptable procedures for potentielt miljøfarlige humane blodprodukter (10–12).
- Brug ikke SPR'erne hvis posen er brudt.
- Anvend ikke synligt ødelagte STR'er (beskadiget folie eller plast).
- Reagenserne må ikke anvendes efter den udløbsdato, der er angivet på etiketten.
- Bland ikke reagenser (eller engangsprodukter) fra forskellige lots.
- Brug **pudder-frie** handsker, da det er rapporteret, at pudder kan give forkerte resultater i visse enzymatiske immunanalyse-tests.
- Kittets reagenser indeholder natriumazid, som kan reagere med bly eller kobber i afløbssystemet og danne eksplosive metalazider. Hvis væske, der indeholder natriumazid, hældes ud i afløbssystemet, skal afløbet skylles med vand for at undgå akkumulering.
- Substratet i brønd 10 indeholder et irriterende stof (6,6% diætanolamin). Der henvises til risikosætningen "R" og forholdsreglerne "S" ovenfor.

- Spild skal tørres omhyggeligt op efter behandling med flydende sæbe og en opløsning af blegemiddel med mindst 0,5% natriumhypoklorit. Se brugervejledningen vedrørende spild på eller i instrumentet. Opløsninger, der indeholder blegemiddel, må ikke autoklaveres.
- VIDAS- og mini-VIDAS-instrumenter skal regelmæssigt rengøres og dekontamineres (se Brugervejledningen).

OPBEVARINGSBETINGELSER

- VIDAS HPY-kittet skal opbevares ved 2-8°C.
- **Reagenserne må ikke nedfryses.**
- **Alle ubrugte reagenser skal opbevares ved 2-8°C.**
- Kontroller at SPR-posen er korrekt forseglet og ubeskadiget, når kittet åbnes. I modsat fald må SPR'erne ikke bruges.
- **Efter brug forsegles posen påny omhyggeligt, med tørremidlet i, for at bevare SPR'ernes stabilitet, hvorefter hele kittet stilles tilbage i 2-8°C.**
- Ved den anbefalede opbevaring er alle komponenter stabile indtil den udløbsdato, der er anført på etiketten.

PRØVER

Prøvetype og –indsamling:

VIDAS HPY-test bør udføres på sera eller plasma (EDTA), som ikke må være hæmolyseret eller kontamineret.
Serumet må ikke opvarmes. Prøver, der indeholder partikler, skal gøres klare ved centrifugering eller filtrering, inden de testes.

Selv om data tydede på, at der ikke er nogen interferens med hæmoglobin (500 mg/dl), lipider (2,0 mg/ml) eller billirubin (30 mg/dl), kan anvendelse af hæmolyserede, ikteriske eller lipæmiske prøver ikke anbefales. Om muligt bør der udtages en ny prøve.

Prøvernes stabilitet

Hvis en prøve ikke testes på indsamlingsdagen, kan den opbevares ved 2-8°C i op til 5 dage; hvis det er nødvendigt med længere opbevaringstid, nedfryses den ved –25 ± 6°C i op til 2 måneder. Undgå mere end to frysninger og optøninger. Test ikke prøver med tydelig mikrobiel kontamination.

BRUGSANVISNING

Se VIDAS eller mini VIDAS brugervejledning for fuldstændig vejledning.

Indlæsning af masterlotdata

Inden hvert nyt lot af reagenser tages i anvendelse, skal specifikationer (eller masterlotdata til kalibreringskurven) indlæses i instrumentet (VIDAS eller mini VIDAS) ved hjælp af det kort til indlæsning af masterlotdata (MLE) (specifikationsark), der er indeholdt i hvert kit. Hvis dette ikke udføres **inden testene påbegyndes**, vil instrumentet ikke kunne udskrive resultater. Masterlotdataene behøver kun at indlæses én gang for hvert lot.
Data kan indlæses automatisk ved hjælp af MLE-kortet eller manuelt.

Kalibrering

Kalibrering ved hjælp af den kalibrator, der følger med kittet, skal udføres, hver gang et nyt lot reagenser åbnes, efter at masterlotdataene er indlæst. Kalibrering bør udføres hver 14. dag. Denne funktion giver instrumentspecifikke kalibreringskurver og kompenserer for eventuelle mindre variationer i analysesignalet i løbet af kittets holdbarhedsperiode.
Den standard, der identificeres af S1, skal testes **dobbelt** (se Brugervejledningen). Standardværdien skal ligge inden for området for den indstillede relative fluorescensværdi, RFV "Relative Fluorescence Value" . Er dette ikke tilfældet, må man rekalibrere.

Procedure

1. **Tag kun de nødvendige reagenser ud af køleskabet og lad dem stå i stuetemperatur i mindst 30 minutter.**
2. Brug én "HPY"-strip og én "HPY"-SPR for hver prøve, kontrol eller standard, der skal testes. **Kontroller at opbevaringsposen bliver forseglet igen, efter at de nødvendige SPR'er er taget ud.**
3. Indtast eller vælg "HPY" for at indlæse testkoden. Standarden skal identificeres som "S1" og testes **dobbelt**. Hvis den positive kontrol skal testes, skal den identificeres med "C1". Hvis det er nødvendigt at teste den negative kontrol , skal den identificeres med "C2".
4. Bland standard, kontroller og prøver med en mikser af Vortex-typen.
5. Pipettér **100 µl** standard, prøve eller kontrol i prøvebrønden.
   (**BEMÆRK**: Kontrollér prøvebrøndene for bobler efter pipettering og bank forsigtigt for at fjerne eventuelle eksisterende bobler).
6. Indsæt SPR'er og strips i instrumentet. Kontroller for en sikkerheds skyld, at de farvede mærkater med analysekoden på SPR'er og reagensstrips stemmer overens.
7. Start analysen som angivet i brugervejledningen. Alle trin i analysen udføres automatisk af instrumentet. Analysen er færdig i løbet af cirka 35 minutter.
8. Fjern SPR'er og strips fra instrumentet, når analysen er færdig.
9. Bortskaf de brugte SPR'er og strips i en egnet beholder.

RESULTATER

Når analysen er gennemført, analyseres resultaterne automatisk af computeren. Fluorescens måles to gange i reagensstrip'ens aflæsningskuvette for hver testet prøve. Den første aflæsning er en baggrundsaflæsning af substratkuvetten, inden SPR'en indføres i substratet. Den anden aflæsning foretages, efter at substratet er inkuberet med det enzym, der er tilbage på det indre af SPR'en. RFV (Relativ Fluorescensværdi) beregnes ved subtraktion af baggrundsaflæsningen fra slutresultatet.

TV= Testværdi = patient RFV / standard RFV

Testværdien sammenlignes dernæst med en tærskelværdi, der er lagret af instrumentet, og et endeligt resultat fortolkes.

Fortolkning af testresultater baseret på testværdi er som følger:
Resultater med testværdier, der ligger under den nederste tærskelværdi, indikerer, at patienten ikke har nogen detektérbare antistoffer mod *H. pylori* .

Tærskler og fortolkning af resultater

Testværditærskel	Fortolkning
TV < 0,75	Negativ
0,75 ≤ TV < 1,00	Usikker
TV ≥ 1,00	Positiv

Der udskrives en rapport med angivelse af:
- den anvendte type test,
- prøvens identifikation,
- dato og klokkeslæt,
- lotnummer og udløbsdatoen for det anvendte reagenskit.
- hver prøves RFV, testværdi og fortolket resultat.

Den unøjagtighed, der ligger i enhver metode, medfører en manglende pålidelighed for prøver med testværdier, der ligger meget tæt på tærskelværdierne. Der opstår følgelig en usikker zone mellem tærskelværdierne baseret på en statistisk forståelse af denne unøjagtighed.
Prøver med testværdier, der er større end eller lig med den øverste tærskelværdi, rapporteres som positive.
Prøver med testværdier mellem 0,75 og 1,00 bør gentages med den oprindelige prøve, hvis den er tilgængelig. Hvis der ikke er adgang til den oprindelige prøve, udtages en ny prøve, og analysen gentages.
Hvis prøven stadig testes usikker, skal der tages hensyn til kliniske informationer og andre tilgængelige laboratorietests.
Ugyldige resultater indrapporteres, når baggrundsaflæsningen er over en forudbestemt grænseværdi (som tegn på en substratkontamination på lavt niveau). I så fald gentages analysen med den oprindelige prøve.
Et ugyldigt resultat ses også, hvis der ikke er nogen tilgængelig standard for lotnummeret på patientens test-strip. I så fald køres der en dobbelt standard i HPY-strips med samme lot-nummer som den ugyldige patienttest. Patienttestesultatet kan derefter genberegnes ved hjælp af den nye lagrede standard.
(Se Brugervejledningem for en mere detaljeret forklaring).

KVALITETSKONTROL

En positiv kontrol og én negativ kontrol er indeholdt i hvert VIDAS HPY –sæt.
Disse kontroller skal analyseres straks efter åbningen af et nyt kit til sikring af, at reagensets ydeevne ikke er ændret. Hver kalibrering skal også kontrolleres ved hjælp af disse kontroller. Instrumentet kan kun kontrollere kontrolværdierne, hvis de er identificeret ved C1 og C2.
De positive og negative ontroller skal testes under anvendelse af god laboratoriepraksis.
Resultater kan ikke godkendes, hvis kontrolværdierne afviger fra de forventede værdier.

Det forventede værdiområde for kit'ets standard indlæses i VIDAS-systemet via MLE-kortet. Værdier, der ligger uden for standardværdiområdet, vil blive mærket som ugyldige, og systemet kan ikke beregne kontrol- og patient RFV og testværdi (TV).

Bemærk

Det er brugerens ansvar at foretage kvalitetskontrol i overensstemmelse med lokalt gældende bestemmelser.

METODENS BEGRÆNSNINGER

1. VIDAS HPY-analysen bør kun anvendes til at evaluere patienter med kliniske tegn og symptomer på gastroduodenal sygdom og er ikke beregnet til brug på asymptomatiske patienter.
2. Som ved enhver diagnostisk test bør resultater fra VIDAS HPY IgG-testen fortolkes i forbindelse med andre laboratorie- og kliniske data, som klinikeren har til rådighed.
3. En positiv HPY-analyse skelner ikke mellem aktiv infektion og kolonisering med *H. pylori*.
4. Et positivt HPY-analyseresultat tyder blot på, at der er IgG antistoffer mod *H. pylori* til stede og antyder ikke nødvendigvis, at der er nogen gastroduodenal sygdom.
5. Et negativt HPY-analyseresultat angiver enten, at der ikke er IgG antistoffer mod *H. pylori* til stede, eller at de er på et niveau, der ikke kan detekteres af HPY-analysen.
6. Præstationen er ikke blevet demonstreret for overvågning af virkningerne af antimikrobiel behandling mod *H. pylori*.
7. Annalysen er ikke blevet etableret for patienter under 18 år.
8. Der kan forekomme interferens med visse sera, der indeholder antistoffer rettet mod reagenskomponenter. Derfor skal der ved fortolkning af testresultaterne tages højde for patientens sygehistorie og resultaterne af eventuelle andre udførte undersøgelser.

FORVENTEDE VÆRDIER

H. pylori-infektion er fundet verden over, men den geografisk spredning af forekomsten er stærkt varierende. Den er altid højere i udviklingslande (70-90%) end i industrilande (20-30%), højere forekomst forbindes med lavere socio-økonomiske niveauer. Hos europide populationer i USA og andre industrialiserede lande er *H. pylori*-infektion ikke hyppig i barndommen, men for hvert leveår øges forekomsten 0,5-2%, og når op på omkring 50% hos personer på 60 år eller derover. Forekomsten lader til at være højere hos den farvede og latinamerikanske del af befolkningen end blandt hvide (13,14). Hyppigheden af *H. pylori*-infektion hos patienter med diagnosticeret duodenalt ulcus er cirka 80% i alle aldersgrupper (15).

I en tilfældig population på 200 tilsyneladende raske bloddonorer, der blev testet med VIDAS HPY, var den positive andel 27,5% med en usikkerhedsrate på 5,5%.
Forventede værdier for en given population bør bestemmes for hvert enkelt laboratorium. Positivitetsandelen for enhver test kan variere, afhængigt af faktorer som geografisk placering, alder og køn hos den undersøgte population, årstid, prøveindsamlings- og håndteringsprocedurer etc.

PRÆSTATIONER

I alt 247 frosne serumprøver og 100 friskindsamlede serumprøver blev anvendt til evaluering af VIDAS HPY's sensitivitets- og specificitets-præstation.

To hundrede og fire frosne serumprøver blev karakteriseret ved dyrkning. Nioghalvfems prøver blev betragtet sm negative for *H. pylori,* og 105 prøver blev betragtet som positive.

Treogfyrre frosne serumprøver blev defineret ved histologi. Seksogtyve prøver blev betragtet som negative, og 17 prøver blev betragtet som positive.

De samme 247 frosne serumprøver og 100 friskindsamlede serumprøver blev også evalueret ved en konkurrerende EIA-metode.

Tabel 1

204 kulturdefinerede serumprøver

Tabel 1

		Kultur	
		+	-
VIDAS	+	103	9
VIDAS	E	0	1
HPY	-	2	89

1 VIDAS-usikker (ikke inkluderet i beregningerne).

Klinisk sensitivitet 98,10%
95% CI 93,12% - 99,77%

Klinisk specificitet 90,82%
95% CI 83,28% - 95,71%
CI : Konfidensinterval

Tabel 2

43 Histologistamme-definerede serumprøver

Tabel 2

		Histologi	
		+	-
VIDAS	+	17	0
HPY	-	0	26

Procent positiv overensstemmelse	17/17	100%
Procent negativ overensstemmelse	26/26	100%
Resultaternes konkordans	43/43	100%

Tabel 3

247 Serumprøver evalueret ved en konkurrerende EIA metode.

Tabel 3

		EIA	
		+	-
VIDAS	+	118	11**
VIDAS	E***	1	1
HPY	-	2*	114

2 VIDAS-usikre (ikke inkluderet i beregningerne).

Procent positiv overensstemmelse	118/120	98,3%
Procent negativ overensstemmelse	114/125	91,2%
Resultaternes konkordans	232/245	94,7%

* To serumprøver, der blev fundet konkurrerende EIA-positive/VIDAS HPY-negative, var negative ved dyrkning.

**Syv serumprøver, der blev fundet konkurrerende EIA-negative/VIDAS HPY-positive, var negative ved dyrkning. En serumprøve, der blev fundet konkurrerende EIA-negativ/VIDAS HPY-positiv var positiv ved dyrkning. Tre serumprøver, der blev fundet konkurrerende EIA-negative/VIDAS HPY-positive var positive ved histologi.

***En serumprøve, der blev fundet konkurrerende EIA-positiv/VIDAS HPY-usikker, var negativ ved dyrkning. En serumprøve, der blev fundet konkurrerende EIA-negativ/VIDAS HPY-usikker, var negativ ved dyrkning.

Tabel 4

100 friskindsamlede serumprøver defineret ved en anden EIA metode.

Tabel 4

		EIA	
		+	-
VIDAS	+	30	6
VIDAS	E	1	0
HPY	-	1	62

1 VIDAS-usikker (ikke inkluderet i beregningerne).

Procent positiv overensstemmelse	30/31	96,8%
Procent negativ overensstemmelse	62/68	91,2%
Resultaternes konkordans	92/99	92,9%

Afvigende resultater blev ikke reevalueret med en anden *H. pylori* detektionsmetode.

REPRODUCÉRBARHED

VIDAS HPY-reproducérbarhed blev påvist ved hjælp af et 6-prøvers panel af poolede prøver, bestående af 2 negative, 2 lavt positive og 2 positive samlinger. Dette panel blev kørt tre steder: Hver samling blev kørt 10 gange i én instrumentkørsel over tre dage. Resultaterne af både inderfor-kørsel-unøjagtighed og samlet unøjagtighed er vist i Tabel 5.

VIDAS testværdi (TV) blev anvendt. Variationskoefficienten (CV) er ikke fremlagt for de negative samlinger, i stedet er standarddeviationen (SD) fremlagt som mål for varians. Resultaterne er fremlagt i henhold til National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Tabel 5 (Alle centre)

		Negativ		**Svagt positiv**		**Stærkt positiv**	
N		90	90	90	90	90	90
Gennemsnitlig TV		0,32	0,22	1,75	1,33	9,39	5,39
Inden-for-kørsel	**SD**	0,02	0,01	0,07	0,06	0,25	0,20
	% CV	5,8	6,3	3,9	4,7	2,7	3,8
Mellem	**SD**	0,05	0,02	0,08	0,08	0,44	0,78
Dage	**% CV**	16,1	11,0	4,5	6,0	4,6	14,4
Total unøjagtighed	**SD**	0,05	0,12	0,25	0,21	1,67	0,78
Mellem centre	**% CV**	NA	NA	14,2	15,5	17,8	14,4

NA=Ikke aktuelt

KRYDSREAKTIVITET

	VIDAS HPY
R.F. +	1/18
A.N.A.+	2/14
MNI +	0/19
Influenza +	0/11
HSV +	1/16
Toxoplasmose IgG +	0/14
Syfilis +	0/10
CMV IgG +	0/12
Lupus erythematosus +	0/3

I alt 122 prøver, som var negative for anti-*H. pylori* –antistoffer (ved en konkurrerende EIA-metode) blev testet. 5 usikre VIDAS HPY-resultater blev udelukket fra tabellen (1 usikker RF +, 2 usikre ANA +, 1 usikker influenza +, 1 usikker toxoplasmose IgG +).

ANALYSESPECIFICITET

For at teste for analysespecificitet blev testorganismer for-inkuberet i en samling af humant anti-*H. pylor*i positivt serum og testet i tre eksemplarer.
De testede organismer er angivet nedenfor og viste ingen uventede resultater ved VIDAS HPY-analysen Det seropositive serum forblev positivt efter absorption ved hver organisme med undtagelse af *H. pylori*-stammen.

Bacteroides fragilis
Borrelia burgdorferi
Campylobacter coli
Campylobacter fetus fetus
Campylobacter fetus venerealis
Campylobacter hyointestinalis
Campylobacter jejuni
Campylobacter lari
Campylobacter rectus
Candida albicans
Citrobacter freundii
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Helicobacter cinaedi
Helicobacter pylori
Klebsiella pneumoniae
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas fluorescens
Salmonella minnesota
Serratia liquefaciens
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Wolinella succinogenes
Yersinia enterocolitica

BORTSKAFFELSE AF AFFALD

Bortskaf alle brugte eller ubrugte komponenter samt eventuelle andre kontaminerede materialer efter procedurer for infektiøse eller potentielt infektiøse produkter.
Det er ethvert laboratoriums ansvar at håndtere det affald og spildevand, der opstår, i overensstemmelse med dets art og grad af farlighed, og at behandle og bortskaffe det (eller få det behandlet og bortskaffet) i henhold til gældende forskrifter.

LITTERATURHENVISNINGER

1. BUCK, G.E. 1990. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Clin. Microbiol. Rev. 3:1-12.
2. MARSHALL, B.J. and J.R. WARREN. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet I:1311-1314.
3. PETERSON, W.L. 1991. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. New England J. Med. 324(15):1043-1048.
4. BLASER, M.J. 1992. Hypothesis on the Pathogenesis and Natural History of *Helicobacter pylori*-Induced Inflammation. Gastroenterology. 102:720-727.
5. TAYLOR, D.N. and M.J. BLASER. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiol. Rev. 13:42-59.
6. MARSHALL. B.J. et al. 1988. Carbon-14 urea breath test for diagnosis of *Campylobacter pylori* associated gastritis. J. Nucl. Med. 29:11-16.
7. WILCOX, M.H. et al. 1996. Accuracy of serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection - a comparison of eight kits. J. Clin. Pathol. 49:373-376.
8. GRAHAM, D.Y. et al. 1987. *Campylobacter pylori* detected non-invasively by the C-13 urea breath test. Lancet 23:1174-1177.
9. TALLEY, N.J. et al. 1991. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. J. Clin. Microbiol. 29:1635-1639.
10. U.S. Department of Heath and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
11. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard, M29-A. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazard and /Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. NCCLS, Wayne Pa.
13. DOOLEY, C.P. et al. 1989. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. New England J. Med. 321:1562-1566.
14. GRAHAM, D.Y. et al. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology. 100:1495-1501.
15. LOFFELD, R.J., et al. 1991. The prevalence of anti-*Helicobacter (Campylobacter) pylori* antibodies in patients and healthy blood donors. J. Med. Microbiol. 32:105-109.

SYMBOLFORTEGNELSE

Symbol	Betydning
REF eller **REF**	Katalognummer
IVD	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Producent
	Temperaturbegrænsning
	Holdbar til
LOT	Lotnummer
i	Se brugsanvisning
Σ	Indeholder tilstrækkeligt til "n" test

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY)

IVD

VIDAS® *H. pylori* IgG (HPY) jest automatycznym jakościowym testem w systemie VIDAS do wykrywania przeciwciał IgG przeciwko *Helicobacter pylori* w ludzkiej surowicy lub osoczu (EDTA) z zastosowaniem techniki ELFA (metoda enzymo-immunofluorescencyjna). Oznaczenie VIDAS® HPY ma pomagać w rozpoznawaniu zakażenia wśród dorosłej populacji, u której występują objawy zakażenia.

WPROWADZENIE

Wykazano, że zakażenie *Helicobacter* (dawne *Campylobacter*) *pylori,* mikroaerofilną pałeczką spiralną, doprowadza do zapalenia błony śluzowej żołądka (gastritis), a u niektórych zakażonych osób – wrzodów. Zakażenie może także odgrywać rolę w rozwoju raka żołądka (1, 2, 3). Pacjenci objawowi z *H. pylori* uważani są za zakażonych, a pacjenci bezobjawowi z *H.* pylori uważani są za skolonizowanych. Większość ludzi skolonizowanych *H. pylori* nigdy nie będzie miało wrzodów i przez lata, a czasami dziesiątki lat pomimo kolonizacji będą oni pozostawać bezobjawowi (4, 5).

Istnieją inwazyjne i nieinwazyjne metody stwierdzania obecności *H. pylori*. Biopsja uzyskiwana drogą endoskopii używana była tradycyjnie celem uzyskania próbek tkanki żołądka lub dwunastnicy do dalszego barwienia, posiewu i/lub bezpośredniego wykrycia ureazy.

W przypadku biopsji u osobników zakażonych mogą występować wyniki fałszywie ujemne ze względu na niejednorodne rozmieszczenie *H. pylori* w próbce lub z powodu uzyskania próbki z nieżywymi lub nie produkującymi ureazy *H. pylori* (6). Poza tym metody inwazyjne jak endoskopia wiążą się z dyskomfortem dla pacjenta, ryzykiem oraz są kosztowne.

Do metod nieinwazyjnych zalicza się mocznikowy test oddechowy oraz metody serologiczne. Testy oddechowe wykrywają obecność *H. pylori* dzięki wysokoaktywnej ureazie. Mocznik wyznakowany węglem-14 lub węglem-13 połykany jest przez pacjenta, a obecność dwutlenku węgla w wydychanym powietrzu mierzy się metodą scyntylacyjną lub na drodze spektrometrii masowej. Minusem testów oddechowych jest ekspozycja pacjenta na działanie radioizotopów i drogi sprzęt (6, 7, 8).

Pacjenci zakażeni *H. pylori* wytwarzają przeciwciała w surowicy, które korelują z występowaniem potwierdzonego histopatologicznie zakażenia *H. pylori*.

Metody serologiczne (takie jak oznaczenia immunoenzymatyczne) są nieinwazyjne, tanie, szybkie, łatwe do wykonania w porównaniu z metodami inwazyjnymi, główną zaletą metod serologicznych jest to, że nie zależą od dokładności pobrania materiału (7, 9).

ZASADA

Podstawą badania jest enzymoimmunologiczna metoda kanapkowa, przebiegająca dwuetapowo z końcowym odczytem fluorescencji (ELFA). Wszystkie etapy jak i temperatury oznaczenia są automatycznie kontrolowane przez aparat. Pipetka SPR (Solid Phase Receptacle) służy jako faza stała, jak również jako urządzenie pipetujące w czasie oznaczenia. Odczynniki niezbędne do przeprowadzenia oznaczenia są gotowe do użycia i nałożone na zapieczętowane paski testowe.

Po wstępnym płukaniu i etapach rozcieńczenia próbki, próbka jest cyklicznie wprowadzana do i pobierana z pipetki SPR przez określony czas. Przeciwciała przeciwko *H. pylori* obecne w próbce zwiążą się z antygenem *H. pylori* opłaszczonym na wewnętrznej powierzchni SPR. Niezwiązane składniki próbki są wypłukiwane.

Do pipetki SPR są cyklicznie wprowadzane i pobierane przeciwciała anty-ludzkim IgG wyznakowane fosfatazą alkaliczną, wiążą się one z ludzkimi przeciwciałami IgG związanymi z powierzchnią ścianki SPR. Końcowe płukanie powoduje usunięcie niezwiązanych składowych koniugatu anty-ludzkim przeciwciałom.

Podczas ostatniego etapu, substrat (fosforan 4 - Metylo-umbeliferylu) jest dynamicznie inkubowany wewnątrz pipetki SPR. Enzym koniugatu katalizuje hydrolizę substratu do fluoryzującego produktu (4-Metylo-umbeliferonu), następnie mierzona jest fluorescencja przy długości fali 450 nm. Intensywność fluorescencji jest mierzona przez skaner optyczny aparatu VIDAS.

Na koniec oznaczenia wyniki analizowane są automatycznie przez komputer, wyliczana jest wartość testowa i dla każdej próbki drukowany jest raport.

ZAWARTOŚĆ ZESTAWU (30 TESTÓW) :

30 pasków testowych HPY	STR	Gotowe do użycia.
30 pipetek SPR HPY (1 x 30)	SPR	Gotowe do użycia. Wnętrze pipetek SPR opłaszczone oczyszczonym antygenem *H. pylori*.
HPY Standard (1 x 2 ml)	S1	Gotowy do użycia. Ludzka* surowica zawierająca przeciwciała anty-*H. pylori* + 1 g/l azydek sodu. Przedział ufności dla „Wartości fluorescencji względnej (RFV)" podany jest na karcie MLE po następującym zdaniu : "Standard (S1) RFV Range".
HPY Kontrola dodatnia (1 x 1,5 ml)	C1	Gotowa do użycia. Ludzka* surowica zawierająca przeciwciała anty-*H. pylori* + 1 g/l azydek sodu. Przedział ufności "Wartości testowej" (TV) podany jest na karcie MLE po następującym zdaniu : "Control C1 Test Value Range".
HPY Kontrola ujemna (1 x 1,5 ml)	C2	Gotowa do użycia. Ludzka* surowica niezawierająca przeciwciał anty-*H. pylori* + 1 g/l azydek sodu. Przedział ufności "Wartości testowej" (TV) podany jest na karcie MLE po następującym zdaniu : "Control C2 Test Value Range".
1 karta MLE		Arkusz specyfikacji zawierający fabryczne dane kalibracyjne wymagane do skalibrowania testu.
1 Ulotka techniczna		

* Niniejszy produkt został poddany testom i uznany za wolny od antygenu HBS, przeciwciał przeciwko HIV1, HIV2 i HCV. Jednak ponieważ nie istnieje metoda mogąca zapewnić całkowitą pewność jeżeli chodzi o wykluczenie obecności tych patogenów, niniejszy produkt powinien być traktowany jako potencjalnie zakaźny. Z tego względu należy przestrzegać obowiązujących środków bezpieczeństwa.

OPIS

Każdy test VIDAS® HPY wymaga użycia jednego paska testowego HPY i jednej pipetki SPR HPY.

Pipetka SPR

Wnętrze pipetki SPR w czasie produkcji jest opłaszczane oczyszczonym antygenem *H. pylori*. Każdy SPR jest oznaczony kodem HPY. Powinno się wyjmować z torebki tylko potrzebną ilość SPR, **a potem ją dokładnie zamknąć.**

Pasek testowy

Pasek testowy składa się z 10 zakrytych folią studzienek. Naklejka naklejona na folii zawiera kod paskowy, który określa typ wykonywanego testu, numer serii i datę ważności testu. Aby ułatwić wprowadzenie badanej próbki do pierwszej studzienki, folia zakrywająca tą studzienkę jest perforowana. Ostatnią studzienką w każdym zestawie jest kuweta pomiarowa, w której dokonywany jest pomiar fluorescencji. Studzienki w centralnej części paska zawierają wymagane odczynniki.

Opis paska testowego

Studzienki	Odczynniki
1	Próbka.
2	Rozcieńczalnik próbki: TRIS buforowany solą fizjologiczną (0,05 mol/l, pH 7,4) + stabilizatory białkowe + 1 g/l azydek sodu (600 µl).
3	Bufor wstępnego płukania: TRIS buforowany solą fizjologiczną (0,05 mol/l, pH 7,4) + stabilizatory białkowe + 1 g/l azydek sodu (400 µl).
4 - 5 - 7	Bufor płuczący: TRIS buforowany solą fizjologiczną (0,05 mol/l) + detergent + 1 g/l azydek sodu (600 µl).
6	Koniugat: miareczkowana mieszanina mysich monoklonalnych przeciwciał anty-ludzkim IgG wyznakowanych fosfatazą alkaliczną + 1 g/l azydek sodu (400 µl).
8	Bufor płuczący: bufor DEA (360 mmol/l) + 1g/l azydek sodu (600 µl).
9	Rozcieńczalnik próbki: bufor TRIS (0,05 mol/l, pH 7,4) + stabilizatory białkowe + 1 g/l azydek sodu (300 µl).
10	Kuweta z substratem: fosforan 4-Metyloumbelliferylu (0,6 mmol/l) + dietanoloamina DEA* (0,62 mol/l lub 6,6 %) pH 9,2 + 1 g/l azydku sodowego (300 µl).

*** Odczynnik DRAŻNIĄCY:**
- **R 36 :** Drażni oczy.
- **S 26 :** W przypadku kontaktu z oczami, przepłukać natychmiast dużą ilością wody i szukać pomocy medycznej.

W celu uzyskania dokładniejszych informacji, należy zwrócić się o Kartę Bezpieczeństwa dostępną na życzenie.

WYPOSAŻENIE WYMAGANE LECZ NIE WCHODZĄCE W SKŁAD ZESTAWU

- Pipeta na 100 µl z jednorazowymi końcówkami.
- Rękawiczki jednorazowe bez talku

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- **Wyłącznie do zastosowania w diagnostyce *in vitro*.**
- **Wyłącznie do specjalistycznego zastosowania.**
- **Zestaw ten zawiera produkty pochodzenia ludzkiego. Żadne znane analizy całkowicie nie gwarantują nieobecności czynników zakaźnych. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Z tego powodu powinno się przestrzegać zasad bezpieczeństwa przy posługiwaniu się nimi (patrz “Laboratory biosafety manual” – WHO – Geneva – ostatnie wydanie).**
- Zestaw ten zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt całkowicie nie gwarantują nieobecności czynników zakaźnych. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Z tego powodu powinno się przestrzegać zasad bezpieczeństwa przy posługiwaniu się nimi (nie spożywać i nie wdychać).
- Wszelkie próbki pochodzące od pacjentów należy uznać za potencjalnie zakaźne z tego względu należy przestrzegać rutynowych środków ostrożności. Wszelkie zużyte elementy oraz inne materiały zanieczyszczone, należy utylizować w sposób zgodny z procedurami dotyczącymi pozbywania się potencjalnie niebezpiecznych produktów ludzkiej krwi (10-12).
- Nie używać pipetek SPR jeżeli torebka, w której się znajdują jest przedziurawiona.
- Nie używać wizualnie uszkodzonych pasków testowych STR (zniszczona folia albo plastik).
- Nie używać odczynników po dacie ważności wskazanej na etykiecie pudełka.
- Nie mieszać odczynników (lub materiałów zużywalnych) z różnych serii.
- Używać rękawiczek **bez talku**, ponieważ talk może wpływać na poprawność wyników w przypadku pewnych badań immunoenzymatycznych.
- Zestaw odczynników zawiera azydek sodowy, który może reagować z ołowiem lub miedzią prowadząc do tworzenia wybuchowych azydków metali. Jeżeli jakiś roztwór zawierający azydek sodowy jest usuwany z systemu, sączki powinny być opłukiwane wodą dla uniknięcia niekorzystnego wpływu na armaturę.
- Substrat w studzience 10 zawiera szkodliwy środek (6,6% dietanoloamina). Patrz powyżej na temat ryzyka "R" i środków ostrożności "S".

- Zabrudzenia aparatu powinny być dokładnie wycierane przy użyciu roztworu detergentu lub przygotowanego, wybielającego roztworu zawierającego przynajmniej 0,5 % podchloryn sodu. Zobacz - Instrukcja Użytkownik - czyszczenie zabrudzeń lub aparat. Nie autoklawować substancji zawierających wybielacz.
- Aparaty VIDAS i mini VIDAS powinny być regularnie czyszczone i poddawane dekontaminacji (patrz - Instrukcja Użytkownika VIDAS).

WARUNKI PRZECHOWYWANIA

- Zestaw VIDAS HPY przechowywać w temp. 2-8^{0}C.
- **Nie zamrażać odczynników.**
- **Wszystkie niezużyte odczynniki przechowywać w temp. 2-8^{0}C**
- Po otwarciu zestawu należy sprawdzić czy torebka SPR jest zapieczętowana i czy nie jest uszkodzona. Jeżeli jest uszkodzona nie należy stosować takich pipetek SPR.
- **Torebkę należy dokładnie zamknąć pamiętając aby w środku pozostał osuszacz. Tak zabezpieczony zestaw można dalej przechowywać w temp. 2-8^{0}C.**
- Jeżeli spełnione zostaną wszystkie warunki przechowywania, zestaw jest ważny aż do osiągnięcia daty ważności na etykiecie.

MATERIAŁY

__Typy materiałów i ich pobieranie__:

Oznaczenie VIDAS HPY powinno być przeprowadzone na próbkach surowicy lub osocza (EDTA), które nie powinny być zhemolizowane lub zanieczyszczone.
Nie podgrzewać surowicy. Próbki zawierające cząsteczki zanieczyszczeń powinny być odwirowane lub przefiltrowane przed wykonaniem oznaczenia.

Mimo, iż dane wskazują na brak interferencji z hemoglobiną (500 mg/dl), lipidami (2,0 mg/ml) lub bilirubiną (30 mg/dl), nie należy stosować próbek zhemolizowanych, żółtaczkowych lub lipemicznych. Jeżeli jest to możliwe, należy pobrać nową próbkę.

__Trwałość materiału__

Jeżeli próbka nie jest poddawana oznaczeniu w dniu pobrania, może być przechowywana w temp 2-8°C do 5 dni; jeżeli niezbędne jest dłuższe przechowywanie, należy zamrozić próbkę w temp. -25° ± 6°C, można ją wtedy przechowywać nawet do 2 miesięcy. Możliwe są dwa cykle rozmrażania i zamrażania. Nie oznaczać próbek zanieczyszczonych w wyraźny sposób mikroorganizmami.

INSTRUKCJE UŻYTKOWANIA

W celu uzyskania pełnych instrukcji, patrz Podręcznik Użytkownika VIDAS lub mini VIDAS.

__Krzywa kalibracyjna__

Przed każdym użyciem odczynników nowej serii należy wprowadzić do pamięci aparatu dane przygotowanej fabrycznie krzywej kalibracyjnej, zawarte na karcie MLE (*Master Lot Entry).* Karta MLE dołączana jest do każdego zestawu odczynnikowego. **Bez wprowadzenia danych MLE test nie zostanie wykonany**. Dane o krzywej kalibracyjnej należy wprowadzić do pamięci aparatu raz dla danej serii odczynników.
Dane z karty MLE można wprowadzać do aparatu automatycznie lub ręcznie.

__Rekalibracja__

Rekalibracja przy użyciu standardu dołączonego do zestawu, musi być przeprowadzona po otrzymaniu nowej serii odczynników, ale dopiero po wprowadzeniu danych krzywej kalibracyjnej (karta MLE). Następnie co 14 dni należy przeprowadzać rekalibrację. Dzięki tej operacji uzyskuje się krzywe kalibracyjne specyficzne dla danego urządzenia, operacja ta również kompensuje możliwe niewielkie odchylenia w sygnale oznaczenia aż do osiągnięcia przez zestaw daty ważności.
Standard oznaczony jako S1 powinien być badany **w dublecie** (patrz Instrukcja Użytkownika).
Poziom RFV standardu "Relative Fluorescence Value" musi zawierać się w wyznaczonym przedziale. Jeżeli tak nie jest, należy ponownie wykonać rekalibrację.

Procedura

1. **Z lodówki wyjąć tylko odpowiednią ilość odczynników i umieścić je w temperaturze pokojowej na około 30 minut.**
2. Wyjąć z pudełka po jednym pasku testowym "HPY" i jednej pipetce SPR "HPY" dla każdej próbki, kontroli lub standardu, które będą badane. **Należy zwrócić uwagę, aby torebka z pipetkami SPR była stale, szczelnie zamknięta.**
3. Wpisać lub wybrać "HPY" w celu określenia kodu badania. Standard musi być oznaczony jako "S1" i badany **w dublecie**. Jeżeli ma być testowana kontrola dodatnia, powinna być oznaczona "C1". Jeżeli ma być testowana kontrola ujemna, powinna być oznaczona "C2".
4. Wymieszać standard, kontrolę i próbki przy użyciu mieszadła Vortex.
5. Odpipetować **100 µl** standardu, próbki lub kontroli do pierwszych studzienek pasków testowych.

   (**UWAGA**: Należy sprawdzić czy w studzienkach nie ma pęcherzyków powietrza, jeżeli są to delikatnie stukając należy je usunąć.).
6. Umieścić paski testowe i pipetki SPR w aparacie. Sprawdź czy kolorowe nalepki z kodem testu na pipetkach SPR zgadzają się z analogicznymi umieszczonymi na paskach testowych.
7. Rozpocząć badanie zgodnie z Instrukcją Użytkownika. Wszystkie etapy badania są przeprowadzane przez aparat. Badanie zostanie wykonane w ciągu około 35 minut.
8. Po zakończeniu badania usunąć paski testowe i pipetki SPR z aparatu.
9. Zużyte pipetki SPR i paski testowe należy odpowiednio potraktować.

WYNIKI

Dla każdej testowanej próbki odbywa się podwójny pomiar fluorescencji w kuwecie pomiarowej pasków testowych. Pierwszy odczyt jest odczytem tła względem kuwety i substratu przed wprowadzeniem SPR do substratu. Drugi odczyt odbywa się po inkubacji substratu w pipetce SPR. RFV obliczane jest poprzez odjęcie odczytu tła od wyniku końcowego.

TV= Wartość testowa = RFV pacjenta/ RFV standardu

Wartość testowa jest następnie porównywana do punktu odcięcia przechowywanych w komputerze i na końcu interpretowany jest wynik końcowy.

Interpretacja wyników oparta jest na wartościach testowych jak przedstawiono poniżej:
Wyniki o wartościach testowych poniżej dolnego punktu odcięcia wskazują na niewykrywalny poziom przeciwciał anty-*H. pylori* u pacjenta.

Punkty odcięcia i interpretacja wyników

Punkty odcięcia wartości testowych	Interpretacja
TV < 0,75	Ujemni
0,75 ≤ TV < 1,00	Wątpliwy
TV ≥ 1,00	Dodatni

Drukowany raport zawiera :
- typ przeprowadzonego badania,
- identyfikator próbki,
- datę i czas,
- numer serii i datę ważności użytego zestawu odczynników,
- poziom RFV dla każdej próbki, odczyt tła, wartość testową i interpretację wyniku.

Niedokładność typowa dla różnych metod sugeruje brak ufności w próbkach, których wartości testowe są bliskie wartościom odcięcia. Konsekwentnie, pomiędzy wartościami odcięcia ustala się strefę niepewnych wyników ustalanych na podstawie zrozumienia statystycznego braku precyzji.
Próbki z wartościami równymi lub wyższymi niż górny punkt odcięcia uważane są za dodatnie.
Próbki o wartości testowej pomiędzy 0,75 a 1,00 powinny być zbadane ponownie z wykorzystaniem oryginalnego materiału, jeżeli jest dostępny. Jeżeli nie ma już oryginalnego materiału, należy uzyskać nowy materiał I powtórzyć badanie.
Jeżeli próbka ponownie będzie wątpliwa, powinno się rozpatrzyć informacje kliniczne i wykonać inne dostępne testy laboratoryjne.
Wyniki błędne zgłaszane są wówczas, gdy odczyt tła jest wyższy niż określona wstępnie wartość odcięcia (wskazując na zanieczyszczenie substratu niskiego stopnia). W takim przypadku należy powtórzyć oznaczenie z oryginalną próbką.
Wynik błędny wystepuje również tam, gdzie dla danego numeru serii paska testowego pacjenta nie było dostępnego standardu. W takim przypadku, należy przeprowadzić oznaczenie standardu w dublecie na paskach HPY o tym samym numerze serii co wynik błędny u pacjenta. Wynik oznaczenia u pacjenta można przeliczyć ponownie przy użyciu nowego standardu.
(W celu zapoznania się z dokładnymi procedurami analizy danych, należy zapoznać się z Podręcznikiem Użytkownika).

KONTROLA JAKOŚCI

Jedna kontrola dodatnia i jedna kontrola ujemna znajdują się w każdym zestawie odczynników VIDAS HPY.
Kontrola, przy pomocy tych odczynników musi być wykonana po otwarciu nowego zestawu odczynników dla zapewnienia poprawności wyników. Kontrole muszą być sprawdzone podczas każdej rekalibracji. Aparat będzie w stanie sprawdzić wartość kontroli tylko wtedy gdy będą one oznaczone jako C1 i C2. Kontrole dodatnia u ujemna muszą być badane zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej.
Wyniki nie mogą zostać zatwierdzone, jeżeli nie zawierają się w oczekiwanych przedziałach.
Zakres oczekiwanych wartości dla standardu z zestawu jest wprowadzany do systemu VIDAS za pomocą karty MLE. Wartości standardu poza zakresem będą oznaczone jako nieważne i system nie będzie w stanie wyliczyć wartości RFV kontroli i pacjentów i wartości testowych (TV).

Uwaga

Obowiązkiem użytkownika jest przeprowadzenie kontroli jakości zgodnie z lokalnymi uregulowaniami.

OGRANICZENIA BADANIA

1. Oznaczenie VIDAS HPY powinno być wykorzystywane jedynie do oceny pacjentów z objawami choroby wrzodowej dwunastnicy, nie jest natomiast przewidziany do badania pacjentów nie mających objawów.
2. Podobnie jak w przypadku wszelkich testów diagnostycznych, wyniki uzyskane w teście VIDAS HPY powinny być interpretowane łącznie z innymi danymi laboratoryjnymi i klinicznymi dostępnymi lekarzowi.
3. Dodatni wynik oznaczenia HPY nie różnicuje aktywnej infekcji i kolonizacji bakterią *H. pylori.*
4. Dodatni wynik oznaczenia HPY wskazuje jedynie na obecność przeciwciał IgG przeciwko *H. pylori*, ale niekoniecznie wskazuje na obecność choroby żołądkowo - jelitowej.
5. Ujemny wynik oznaczeni HPY wskazuje albo na brak obecności przeciwciał przeciwko *H. pylori* albo że przeciwciała te są na tak niskim poziomie, że nie mogą być wykryte za pomocą oznaczenia HPY.
6. Nie można stosować testu do oceny skuteczności leczenia eradykacyjnego *H. pylori*.
7. Oznaczenie nie jest przewidziane dla pacjentów poniżej 18 roku życia.
8. Interferencje mogą być spotykane w pewnych surowicach zawierających przeciwciała skierowane przeciwko składnikom odczynników. Z tego powodu wyniki powinny być interpretowane w porównaniu z historią choroby pacjenta i wynikami innych badań.

ZAKRES SPODZIEWANYCH WARTOŚCI

Zakażenie *H. pylori* stwierdzane jest na całym świecie, ale geograficzny rozkład występowania jest bardzo różnorodny. Zawsze jest on wyższy w krajach rozwijających się (70-90%) niż w krajach uprzemysłowionych (20-30%), wyższy procent występowania związany jest z niskim poziomem socjo-ekonomicznym. W populacjach kaukaskich w Stanach Zjednoczonych i innych krajach uprzemysłowionych, zakażenie *H. pylori* jest rzadkie w dzieciństwie, ale z każdym rokiem zapadalność zwiększa się o 0,5 – 2% osiągając około 50% u osób 60-cio letnich i starszych. Wskaźniki zapadalności wydają się być wyższe u rasy czarnej i Hiszpanów niż u rasy białej (13, 14). Częstość zakażenia *H. pylori* u pacjentów z rozpoznanymi wrzodami dwunastnicy wynosi około 80% we wszystkich grupach wiekowych (15).
W przypadkowo dobranej populacji 200 zdrowych dawców krwi poddanych testowi VIDAS HPY, wskaźnik dodatnich wyników wynosił 27,5 %, przy 5,5 % wyników wątpliwych.
Wartości referencyjne dla danej populacji powinny być określane przez każde laboratorium. Wskaźnik dodatni w przypadku każdego testu może różnić się w zależności od czynników takich, jak położenie geograficzne, wiek, płeć badanej populacji, pory roku, pobranie próbki oraz procedury obróbki próbki, i.t.d.

WIARYGODNOŚĆ

Do oceny czułości i specyficzności VIDAS HPY wykorzystano 247 zamrożonych próbek surowic oraz 100 świeżo pobranych surowic.

Dwieście cztery zamrożone próbki surowic zostały dobrze scharakteryzowane na podstawie hodowli komórkowej. Dziewięćdziesiąt dziewięć próbek uznano za ujemne na obecność *H. pylori*, 105 uznano za dodatnie.

Czterdzieści trzy zamrożone próbki zostały określone przez histologów. Dwadzieścia sześć uznano za ujemne a siedemnaście próbek uznano za dodatnie.

Te same 247 zamrożonych próbek surowic i 100 świeżo pobranych surowic oceniano także przy użyciu metody kompetycyjnej EIA.

Tabela 1

204 próbki surowic określonych na podstawie hodowli

Tabela 1

		Hodowla	
		+	**-**
VIDAS HPY	**+**	103	9
	E	0	1
	-	2	89

1 wynik VIDAS wątpliwy (nieuwzględniony w obliczeniach)

Czułość kliniczna 98,10%
95% PU 93,12% - 99,77%

Specyficzność kliniczna 90,82%
95% PU 83,28% - 95,71%
PU: Przedział ufności

Tabela 2

43 próbek surowicy określonych na podstawie barwienia laboratoryjnego

Tabela 2

		Histologia	
		+	**-**
VIDAS	**+**	17	0
HPY	**-**	0	26

Procent zgodności dodatniej	17/17	100%
Procent zgodności ujemnej	26/26	100%
Zgodność wyników	43/43	100%

Tabela 3

247 zamrożonych próbek surowic oceniano przy użyciu metody kompetycyjnej EIA.

Tabela 3

		EIA	
		+	**-**
VIDAS HPY	**+**	118	11**
	E* **	1	1
	-	2*	114

2 wyniki VIDAS wątpliwe (nieuwzględnione w obliczeniach)

Procent zgodności dodatniej	118/120	98,3%
Procent zgodności ujemnej	114/125	91,2%
Zgodność wyników	232/245	94,7%

* Dwie próbki surowicy, dodatnia w kompetycyjnej metodzie EIA/ujemna VIDAS HPY okazały się ujemne w hodowli.

** Siedem próbek surowicy, ujemna w kompetycyjnej metodzie EIA/ dodatnia VIDAS HPY okazały się ujemne w hodowli. Jedna próbka surowicy, ujemna w kompetycyjnej metodzie EIA/dodatnia VIDAS HPY okazała się dodatnie w hodowli. Trzy próbki surowicy, ujemne w kompetycyjnej metodzie EIA/ dodatnie VIDAS HPY okazały się ujemne w badaniu histologicznym.

***Jedna próbka surowicy, dodatnia w kompetycyjnej metodzie EIA/wątpliwa VIDAS HPY okazała się ujemna w hodowli. Jedna próbka surowicy, ujemna w kompetycyjnej metodzie EIA/wątpliwa VIDAS HPY okazała się ujemna w hodowli.

Tabela 4

100 świeżo pobranych próbek surowic oznaczonych inną metodą EIA

Tabela 4

		EIA	
		+	-
VIDAS HPY	**+**	30	6
	E	1	0
	-	1	62

1 wynik VIDAS wątpliwy (nieuwzględniony w obliczeniach)

Procent zgodności dodatniej	30/31	96,8%
Procent zgodności ujemnej	62/68	91,2%
Zgodność wyników	92/99	92,9%

Wyniki rozbieżne nie zostały ocenione ponownie inną metodą oznaczania *H. pylori*.

POWTARZALNOŚĆ

Powtarzalność VIDAS HPY wykazano za pomocą 6-członowego panelu pewnych serii próbek, składających się z 2 ujemnych, 2 słabo dodatnich i 2 dodatnich. Panel ten był poddany badaniom w trzech miejscach. Każda seria była badana 10 razy na jednym aparacie przez ponad 3 dni. Wyniki niedokładności w zakresie jednego cyklu jak i całkowita niedokładność przedstawione zostały w tabeli 5.

Wykorzystana została wartość testowa VIDAS (TV). Współczynnik wariancji (%CV) nie został przedstawiony w przypadku serii ujemnych, zamiast tego jako miernik zmienności występuje odchylenie standardowe (SD). Wyniki przedstawiono zgodnie z Klinicznymi Standardami Laboratoryjnymi Komitetu Narodowego (NCCLS).

Tabela 5 (Wszystkie miejsca)

		Ujemny		Słabo dodatni		Silnie dodatni	
N		90	90	90	90	90	90
Średnie TV		0,32	0,22	1,75	1,33	9,39	5,39
W obrębie oznaczenia	**SD**	0,02	0,01	0,07	0,06	0,25	0,20
	%CV	5,8	6,3	3,9	4,7	2,7	3,8
Pomiędzy Dniami	**SD**	0,05	0,02	0,08	0,08	0,44	0,78
	%CV	16,1	11,0	4,5	6,0	4,6	14,4
Całkowita niedokładność Między miejscami	**SD**	0,05	0,12	0,25	0,21	1,67	0,78
	%CV	NA	NA	14,2	15,5	17,8	14,4

NA=Nie dotyczy

REAKTYWNOŚĆ KRZYŻOWA

	VIDAS HPY
R.F. +	1/18
A.N.A.+	2/14
MNI +	0/19
Grypa +	0/11
HSV +	1/16
Toksoplazmoza IgG +	0/14
Kiła +	0/10
CMV IgG +	0/12
Rumień wielonarządowy +	0/3

Zbadano 122 próbki ujemne jeżeli chodzi o przeciwciała przeciwko *H. pylori* (przy użyciu metody kompetycyjnej EIA): 5 wyników wątpliwych VIDAS HPY wykluczono z tabeli (1 wątpliwe RF +, 2 wątpliwe ANA +, 1 wątpliwe grypa +, 1 wątpliwa toksoplazmoza IgG +).

SPECYFICZNOŚĆ OZNACZENIA

W celu zbadania specyficzności oznaczenia, badane organizmy inkubowano wstępnie w serii próbek surowicy dodatnich na obecność *H. pylori* i oznaczono w triplecie.

Poddawane testowi organizmy wymienione poniżej, nie wykazywały żadnych nieoczekiwanych wyników jeżeli chodzi o oznaczenie testem VIDAS HPY. Surowice dodatnie pozostały dodatnie po zaabsorbowaniu każdego z organizmów z wyjątkiem szczepu *H. Pylori.*

Bacteroides fragilis
Borrelia burgdorferi
Campylobacter coli
Campylobacter fetus fetus
Campylobacter fetus venerealis
Campylobacter hyointestinalis
Campylobacter jejuni
Campylobacter lari
Campylobacter rectus
Candida albicans
Citrobacter freundii
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Helicobacter cinaedi
Helicobacter pylori
Klebsiella pneumoniae
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas fluorescens
Salmonella minnesota
Serratia liquefaciens
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Wolinella succinogenes
Yersinia enterocolitica

SKŁADOWANIE ODPADÓW

Składowanie wszystkich zużytych i niezużytych składników i innych skażonych materiałów należy przeprowadzać zgodnie z procedurą dotyczącą produktów potencjalnie zakaźnych.
Za obchodzenie się i składowanie wytworzonych odpadów oraz ścieków odpowiedzialne jest laboratorium, które musi traktować je i składować (lub powierzyć do składowania) stosownie do stopnia ich niebezpieczeństwa oraz zgodnie z odpowiednimi regulacjami prawnym.

LITERATURA

1. BUCK, G.E. 1990. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Clin. Microbiol. Rev. 3:1-12.
2. MARSHALL, B.J. and J.R. WARREN. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet I:1311-1314.
3. PETERSON, W.L. 1991. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. New England J. Med. 324(15):1043-1048.
4. BLASER, M.J. 1992. Hypothesis on the Pathogenesis and Natural History of *Helicobacter pylori*-Induced Inflammation. Gastroenterology. 102:720-727.
5. TAYLOR, D.N. and M.J. BLASER. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiol. Rev. 13:42-59.
6. MARSHALL. B.J. et al. 1988. Carbon-14 urea breath test for diagnosis of *Campylobacter pylori* associated gastritis. J. Nucl. Med. 29:11-16.
7. WILCOX, M.H. et al. 1996. Accuracy of serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection - a comparison of eight kits. J. Clin. Pathol. 49:373-376.
8. GRAHAM, D.Y. et al. 1987. *Campylobacter pylori* detected non-invasively by the C-13 urea breath test. Lancet 23:1174-1177.
9. TALLEY, N.J. et al. 1991. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. J. Clin. Microbiol. 29:1635-1639.
10. U.S. Department of Heath and Human Services. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th ed. HHS Publication (CDC) 1999. Government Printing Office, Washington D.C.
11. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Blood borne Pathogens.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard, M29-A. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazard and /Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue. NCCLS, Wayne Pa.
13. DOOLEY, C.P. et al. 1989. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. New England J. Med. 321:1562-1566.
14. GRAHAM, D.Y. et al. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology. 100:1495-1501.
15. LOFFELD, R.J., et al. 1991. The prevalence of anti-*Helicobacter (Campylobacter) pylori* antibodies in patients and healthy blood donors. J. Med. Microbiol. 32:105-109

TABELA SYMBOLI

Symbol	Znaczenie
REF lub REF	Numer katalogowy
IVD	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Producent
	Przechowywać w temperaturze
	Zużyć do
LOT	Numer serii
	Odnieś się do instrukcji użycia
Σ	Zawartość wystarczy do wykonania <n> oznaczeń